

AUS DER KLINIK UND POLIKLINIK FÜR PSYCHIATRIE UND PSYCHOTHERAPIE
DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT MÜNCHEN
(Direktor: Prof. Dr. med. P. Falkai)

**fMRT-Ruhenetzwerke gesunder Probanden:
Prädiktion des HPA-Achsen-Status und Modulation durch
Kortisolapplikation und -suppression**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von
Sara Alessia Kiem

aus
München

2013

MIT GENEHMIGUNG DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Berichterstatter: Prof. Dr. Rainer Rupprecht

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Jennifer Linn
Prof. Dr. Dr. Margot Albus, M.Sc.

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Philipp Sämann

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 8. Mai 2013

Complete freedom from stress is death.
Hans Seyle 1976

Inhaltsverzeichnis	
I Abbildungsverzeichnis	8
II Tabellenverzeichnis	9
III Abkürzungsverzeichnis	10
IV Zusammenfassung	12
1. Einleitung	15
1.1 Stress.....	16
1.1.1 Herkunft des Begriffs Stress.....	16
1.1.2 Geschichte der Stressforschung	17
1.1.3 Stressregulationsmechanismen im Körper.....	19
1.1.4 Regulationssystem HPA-Achse	20
1.1.5 Das Glucocorticoid Kortisol und die Rezeptoren im Gehirn.....	22
1.1.6 Die Untersuchung der HPA-Achsen-Kapazität mit dem Dex/CRH-Test....	24
1.1.7 Kortikale Kontrollmechanismen der HPA-Achse	26
1.1.8 Befunde zu strukturellen und funktionellen Veränderungen des Gehirns bei stressbedingten psychiatrischen Erkrankungen.....	30
1.2 Biomarker	33
1.3 Funktionelle Konnektivität und Ruhenetzwerke	34
1.3.1 Definition von funktioneller Konnektivität.....	34
1.3.2 Definition Ruhenetzwerke	35
1.3.3 Wie werden funktionelle Konnektivität und Ruhenetzwerke berechnet? ...	36
1.3.4 Was sagen Ruhenetzwerke über das Gehirn aus?	38
1.3.5 Stand der Literatur der Stressforschung durch die Kombination von fMRT mit endokrinologischen Parametern.....	40
1.4 Fragestellung	45
2. Material und Methoden	46
2.1 Studiendesign	46
2.1.1 Studienteilnehmer	46
2.1.2 Studiendesign und Studienablauf.....	47
2.2 Material	49
2.2.1 Geräte	49
2.2.1.1 Funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie (fMRT).....	49
2.2.1.2 Elektroenzephalographie (EEG)	53
2.2.2 Verwendete Software und Programme	55

2.2.2.1 Matlab	55
2.2.2.2 Statistical parametric mapping (SPM).....	55
2.2.2.3 FMRI Software Library (FSL).....	55
2.2.2.4 Interactive Data Language (IDL).....	55
2.2.2.5 BrainVision Recorder und Analyzer®	55
2.2.2.6 SPSS	56
2.2.2.7 GraphPad Prism	56
2.3 Angewandte Methoden	56
2.3.1 Kombinierte EEG/fMRT-Messung	56
2.3.2 EEG.....	57
2.3.2.1 Datenaufnahme	57
2.3.2.2 Präprozessierung.....	58
2.3.2.3 Vigilanz-Scoring durch visuelle Analyse	60
2.3.3 fMRT	60
2.3.3.1 Datenaufnahme	60
2.3.3.2 Präprozessierung.....	61
2.3.3.3 Unspezifische Präprozessierung	61
2.3.3.4 Methodenvergleich weiterer Präprozessierungsschritte	63
2.3.3.5 Analysemethoden	66
2.3.3.6 Analyse von seedbasierten Ruhenetzwerken	66
2.3.3.7 Voxelbasierte Analysen	67
2.3.4 Dex/CRH-Test.....	68
2.3.4.1 Datenaufnahme	68
2.3.4.2 Datenauswertung.....	69
2.3.5 Endokrinologische Zusatztestung	69
2.3.6 Fragebögen.....	70
2.4 Analysen	70
2.4.1 Fragestellung I	71
2.4.1.1 Vigilanz Überprüfung	71
2.4.1.2 Generierung der seedbasierten Ruhenetzwerke	72
2.4.1.3 Korrelation der funktionellen Konnektivität mit dem Ergebnis des Dex/CRH-Tests.....	73
2.4.1.4 Kreuzkorrelation der funktionellen Konnektivität zwischen den Seedregionen mit dem Ergebnis des Dex/CRH-Tests.....	73

2.4.2 Fragestellung II	75
2.4.2.1 Vigilanzquantifizierung	75
2.4.2.2 Analysen zu seedbasierten Netzwerken	76
2.4.2.3 Kreuzkorrelationsanalysen für Seedregionen	77
2.4.2.4 Kreuzkorrelationsanalysen für AAL Regionen	77
2.4.2.5 Functional Connectivity Density Mapping (FCDM)	78
3. Ergebnisse	80
3.1 Ergebnisse des Dex/CRH-Tests	80
3.2 Effekte von Kortisol auf Blutdruck und Puls	81
3.3 Fragebögen	81
3.4 Ergebnisse zur Fragestellung I:	82
3.4.1 Ausschluss von signifikanten Vigilanzeffekten in der funktionellen Kon- nektivität der für die Korrelation untersuchten Zeitfenster.....	82
3.4.2 Seedbasierte Ruhenetzwerke	82
3.4.3 Korrelationen der funktionellen Konnektivität mit dem Ergebnis des Dex/CRH-Tests.....	83
3.4.4 Kreuzkorrelationen der funktionellen Konnektivität zwischen den Seed- regionen und dem Ergebnis des Dex/CRH-Tests	86
3.5 Ergebnisse zur Fragestellung II:	88
3.5.1 Vigilanzeffekte auf die funktionelle Konnektivität.....	88
3.5.2 Einfluss des experimentell veränderten Kortisolmilieus auf die funk- tionelle Konnektivität.....	90
3.5.2.1 Analyse der seedbasierten Netzwerke	91
3.5.2.2 Einfluss der Vigilanz am Beispiel des rechten mPFC für die Ergebnisse der Seedanalyse	94
3.5.2.3 Analyse des Effekts des Kortisolmilieus durch Functional Connec- tivity Density Mapping	95
3.5.3 Einfluss durch die Kortisol/Placebo-Intervention	96
3.5.3.1 Seedbasierte Netzwerkanalyse-Intervention × Zeit Effekt	97
3.5.3.2 Interseed-Analysen	98
3.5.3.3 Erweiterung der Interseed-Analysen auf das AAL System	100
3.5.3.4 FCDM Analysen-Intervention × Zeit Effekt.....	104
4. Diskussion	105

4.1 Der Dex/CRH-Test - ein Fenster zum Gehirn in der Erforschung der humanen Stressregulation	105
4.1.1 Möglichkeiten der Messung der HPA-Achsen-Integrität	106
4.1.2 Genetische Komponenten der HPA-Achse	107
4.1.3 Was macht den Dex/CRH-Test zum Fenster des Gehirns?	108
4.2 Mögliche Einflüsse der Persönlichkeitsmerkmale auf die Stresskapazität eines Menschen	109
4.3 Bedeutung der Analysen der Ruhenetzwerke in der bildgebenden Forschung	110
4.3.1 Prädiktion physiologischer und pathologischer Zustände aus Ruhe-fMRT-Messungen	111
4.3.2 Einschränkungen bezüglich der Aussagekraft der Ruhenetzwerke	112
4.3.3 Biologische Relevanz der Ruhenetzwerke	112
4.4 Bedeutung der funktionellen Konnektivität in Ruhenetzwerken als Prädiktor der Stresskapazität in gesunden Probanden	113
4.4.1 Bedeutung der Interseed-Konnektivitäten in Abgrenzung zu den seedbasierten Konnektivitäten für die Charakterisierung der Kapazität der HPA-Achse in gesunden Probanden	118
4.5 Auswirkungen einer veränderten Kortisolumgebung auf das Gehirn in Ruhe im gesunden Probanden	119
4.5.1 Einfluss einer Änderung des Kortisolmilieus auf Netzwerke des Gehirns in Ruhe	120
4.5.2 Placebo-kontrollierte Effekte der Kortisolinjektion auf die funktionelle Konnektivität in Ruhe	124
4.6 Methodische Aspekte und Einschränkungen	128
4.6.1 Vorteile und Nachteile von kombinierten EEG/fMRT-Messung und sich ergebende Schwierigkeiten	128
4.6.2 Hormonintervention - Dosierung und Applikationsart	129
4.6.3 Einschränkungen der Studienergebnisse	130
4.7 Ergebnisszusammenfassung und wissenschaftlicher Beitrag dieser human-biologischen Arbeit	132
V Literaturverzeichnis	134
VI Danksagung	162

I Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Schematische Darstellung der HPA-Achse	21
Abbildung 2	Zirkadianik der physiologischen Kortisolausschüttung	22
Abbildung 3	Komplementäre Wirkungen der beiden Rezeptortypen (GR/MR)	23
Abbildung 4	Vollständiges Studiendesign	47
Abbildung 5	Schema kombinierten EEG/fMRT-Aufnahme	50
Abbildung 6	Darstellung einer hämodynamische Antwort	53
Abbildung 7	Übersicht Elektrodenanordnung der EEG-Kappe	58
Abbildung 8	Mehrstufigen Artefaktbereinigung der EEG-Daten	59
Abbildung 9	Wichtigsten Präprozessierungsschritte der fMRT-Daten	63
Abbildung 10	Korrelationskarten für einen PCC-Seed	66
Abbildung 11	Testaufbau des Dex/CRH-Test	68
Abbildung 12	Abschnitte des Studiendesigns für Fragestellung I	71
Abbildung 13	Verwendete Seedregionen	73
Abbildung 14	Abschnitte des Studiendesigns für Fragestellung II	75
Abbildung 15	Korrelation der Zeitreihen einzelner Voxel für FCDM	79
Abbildung 16	Karte einer Konnektivitätsdichteverteilung	79
Abbildung 17	Interindividuelle Varianz der Kortisol- und ACTH-Werte	80
Abbildung 18	Kortisolabhängige Änderung des Puls und Blutdrucks	81
Abbildung 19	Autokorrelationskarten	83
Abbildung 20	Transhemispherische hippocampale Konnektivität als Marker für die Kortisolausschüttung	84
Abbildung 21	Interseed-Konnektivitäten mit Korrelation zum Dex/CRH-Test	88
Abbildung 22	Vigilanzschwankungen der analysierten Messabschnitten	90
Abbildung 23	Funktionellen Konnektivität in Abhängigkeit des Kortisolmilieus	93
Abbildung 24	Funktionelle Konnektivität in Abhängigkeit der Vigilanz	94
Abbildung 25	Einfluss der Vigilanzkorrektur am Beispiel des rechten mPFC	95
Abbildung 26	Einfluss des Kortisolmilieus auf die Konnektivitätsdichte	96
Abbildung 27	Intervention × Zeit Effekt des subcallosalen ACC	97
Abbildung 28	Haupteffekt des Faktors Intervention für das AAL-System	101
Abbildung 29	Intervention × Zeit Effekt auf Konnektivitätsdichte des linken ACC	104

II Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Korrelation der psychometrischen Fragebögen mit Kortisol	81
Tabelle 2	Prädiktive seedbasierte funktionelle Konnektivität Seed-Regionen	85
Tabelle 3	Prädiktive funktionelle Konnektivität der Interseed-Regionen	86
Tabelle 4	Prädiktive funktionelle Interseed-Subregionen-Konnektivität	87
Tabelle 5	Test der Vigilanzdaten auf Normalverteilung	89
Tabelle 6	Vigilanzvergleich zwischen den Zeitfenstern der Kortisolmilieuanalysen	89
Tabelle 7	Vigilanzvergleich zwischen den Zeitfenstern der akut Interventionen	90
Tabelle 8	Funktionellen Konnektivitätsänderungen in Abhängigkeit des Kortisolmilieus	92
Tabelle 9	Intervention × Zeit Effekt auf die Interseed-Konnektivität	98
Tabelle 10	Konnektivitätsänderungen der Interseedregionen in Abhängigkeit der Zeit	99
Tabelle 11	Intervention × Zeit Effekt auf die Inter-AAL-Regionenkonnektivität	100
Tabelle 12	Haupteffekt des Faktors Zeit für das AAL-Atlas-System	102

III Abkürzungsverzeichnis

ACC	Area cingularis anterior des G. cinguli
ACTH	Adrenocortikotropes Hormon
AUC	Area under the curve
AVP	Argenin-Vasopressin
BA	Brodmann Area
BOLD	Blood oxygen level dependent
CBF	zerebraler Blutfluss (eng. Cerebral Blood Flow)
CBV	zerebrales Blutvolumen (eng. Cerebral Blood Volume)
CMRO ₂	zerebraler Sauerstoffverbrauch (eng. Cerebral Metabolic Rate of Oxygen consumption)
CORT	Kortisolbedingung/-Intervention
CRH	Corticotropin-releasing Hormon
DEX	Dexamethason
Dex/CRH-Test	Dexamethason-Suppressions/Corticotropin-releasing-Hormon- Stimulations-Test
DMN	ein spezielles Ruhenetzwerk (engl. Default Mode Network)
EARLY	frühes Zeitfenster gleich nach der Intervention
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EEG	Elektroencephalographie
EOG	Elektrookulographie
FC	Funktionelle Konnektivität (eng. Functional Connectivity)
FCDM	Functional Connectivity Density Mapping
fMRT/fMRI	Funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie/Imaging
G.	Gyrus
GABA	γ-Aminobuttersäure
GC	Glukocortikoide
GLM	allgemeines lineares Modell (General Linear Model)
GR	Glukocortikoidrezeptor

Abkürzungsverzeichnis

HPA	Hypothalamus – Hypophyse - Nebennierenrinde (engl. Hypothalamic-Pituitary-Adrenal gland)
HRP	Menschen mit hoher Vulnerabilität (engl. high risk person)
ICA	unabhängige Komponenten Analyse (engl. Independent Component Analysis)
i.v.	intravenös
FFT	schnelle Fourier Transformation (engl. Fast Fourier Transformation)
LATE	spätes Zeitfenster ~30 Minuten nach Intervention
MD	Major Depression
mPFC	medialer präfrontaler Kortex
MNI	Montreal Neurological Institute
MPIP	Max-Planck-Institut für Psychiatrie
MR	Mineralocortikoidrezeptor
MRT	Magnet-Resonanz-Tomograph/Tomographie
NaCl	Natriumchlorid (Kochsalz)
PCC	Area cingularis posterior
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PFC	Präfrontaler Kortex
PRE	Zeitfenster vor der Intervention
PLAC	Placebobedingung +/- Intervention
PVN	Nucleus paraventricularis
rs-fMRI	fMRT der Ruhenetzwerke (engl. resting-state fMRI)
ROI	Interessenregion (engl. Region of Interest)
RSN	Ruhenetzwerk (engl. Resting-State-Network)
SNS	sympathische Nervensystem
SPM	Statistical Paramagnetic Mapping
TE	Echozeit (engl. Echo Time)
TR	Wiederholungszeit (engl. Repetition Time)

IV Zusammenfassung

Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA-Achse) ist ein hierarchisch organisiertes, neuroendokrines System, das unter anderem die Freisetzung des Nebennierenrindenhormons Kortisol, dem zentralen Hormon der Stressantwort und der Homöostase des Organismus in Bezug auf die Anpassung an Umweltauforderungen, regelt. Die HPA-Achse ist in ein komplexes System von Regulationsnetzwerken eingebunden, über die der Organismus die Anpassung an ständig wechselnde Anforderungen erfasst und steuert. Fehlanpassungen der HPA-Achse sind hierbei von großer klinischer Bedeutung, da sie zu psychiatrischen Erkrankungen führen können. Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, HPA-Achsen-regulierende kortikale Netzwerke mithilfe der funktionalen Magnetresonanztomographie (fMRT) in verschiedenen Versuchansätzen zu identifizieren.

Der Stand der bisherigen Forschungsergebnisse deutet darauf hin, dass es grundsätzlich einen mit der Methode der fMRT messbaren Zusammenhang zwischen diesen kortikalen Netzwerken im Gehirn und der neuroendokrinen Stressregulationsachse (HPA-Achse) gibt. Wichtige Knotenpunkte solcher kortikaler Netzwerke sind dabei insbesondere Kerne der Amygdala, Teile des Hippokampus und des Hypothalamus sowie Bereiche des präfrontalen Kortex. Diese Regionen üben zum einen Einfluss auf die Freisetzung des Corticotropin-releasing-Hormons (CRH) im Hypothalamus aus, zum anderen werden sie durch Kortisol rekursiv in ihrer Funktion durch ein negatives Feedback beeinflusst. Diese beiden Aspekte wurden im Rahmen dieser Arbeit in separaten Analysen bearbeitet:

Es wurde zunächst untersucht, ob die Aktivität der kortikalen Netzwerke des Gehirns in Ruhe das Ergebnis des kombinierten Dexamethason-Suppressions-CRH-Stimulations-Tests (Dex/CRH-Test) als sensitiven endokrinologischen Stresstest vorhersagen kann. Ferner wurde untersucht, ob sich die Aktivität der Ruhenetzwerke durch eine experimentelle Modulation des Kortisolspiegels signifikant verändert, wobei sowohl der Effekt einer intravenösen Applikation von Kortisol im Vergleich zu Placebo als auch der Effekt einer durch Dexamethason herbeigeführten Suppression von Kortisol untersucht wurde.

Bei der hierfür durchgeführten Studie handelt es sich um ein placebo-kontrolliertes, endokrinologisches fMRT-Experiment im Cross-Over-Design mit kombinierter EEG. Zusätzlich zu den EEG/fMRT-Ruhe-Messungen wurde ein Dex/CRH-Test außerhalb des MRT aufgenommen, um die Funktionalität der HPA-Achse in den Probanden zu quantifizieren. Es wurden 20 gesunde männliche Probanden untersucht. An den Messtagen 1 und 3 wurde je eine knapp einstündige kombinierte EEG/fMRT-Messung durchgeführt, wobei einmal 20 mg Kortisol, gelöst in 10 ml Kochsalzlösung, und einmal 0,9%-ige Kochsalzlösung (10 ml) während der Messung durch eine Bolusinjektion verabreicht wurden. Am

Messtag 2 wurden die EEG/fMRT-Ruhe-Daten (~ 15 Minuten) im Status der Kortisol-suppression durch Dexamethason aufgenommen. Die kombinierte EEG-Messung diente hier vor allem der Vigilanzüberwachung der Probanden, da aus verschiedenen Studien bekannt ist, dass sich die Ruhenetzwerke des Gehirns in Abhängigkeit des Vigilanzstatus verändern. An einem zusätzlichen 4. Messtag wurde außerhalb des MRT an einer Teilgruppe der Probanden die Wirkung einer Kortisolbolusinjektion (20 mg) auf Blutdruck, Puls und Sauerstoffsättigung bestimmt und zusätzlich auch die Wirksamkeit des extern zugeführten Kortisols auf die HPA-Achse ermittelt.

Die fMRT-Ruhe-Daten wurden mit komplementären Methoden aus dem Bereich der Konnektivitätsanalysen untersucht. Dabei wurden sowohl hypothesengeleitete Analysen von Ruhenetzwerken über die Seed-Methode als auch Kreuzkorrelationsanalysen definierter Regionen, oder - im explorativen Ansatz - des gesamten Gehirns einschließlich voxelbasierter Verfahren, angewandt.

Die Analysen zur Modulierung des Kortisolmilieus insgesamt betrachtet lassen den Schluss zu, dass sich die funktionelle Konnektivität des Gehirns in Ruhe durch die Änderung des Kortisolmilieus ändert, sei es durch direkte exogene Kortisolgabe, oder indirekten Kortisolentzug durch die Dexamethasonsuppression. Der Schwerpunkt dieser kortisolabhängigen Modulation lag dabei in präfrontal basierten Ruhenetzwerken. In den Analysen, in denen die drei Zustände der Kortisolmilieuänderungen (Kortisol, Placebo, Kortisol-suppression) verglichen wurden, zeigten sich stärkere Effekte durch die Kortisol-suppression als durch das exogen zugeführte Kortisol. Diese Effekte hatten ihren regionalen Schwerpunkt für die hypothesenbasierte Seedanalyse im medialen präfrontalen Kortex/anterioreen cingulären Kortex (ACC), und in der explorativen Analyse im dorsolateralen präfrontalen Kortex. Effekte auf den Hippokampus und die Amygdala waren dabei relativ schwach ausgeprägt. Die Analysen der dynamischen Änderung nach Kortisolgabe im Vergleich zu Placebo zeigten Effekte im subcallosalen/subgenualen ACC und im dorsalen ACC, sowohl im hypothesengesteuerten als auch im explorativen Ansatz. Da der Analyseschwerpunkt bisheriger Arbeiten auf der Hippokampus/Amygdala-Region lag wird neu postuliert, dass Akuteffekte nach 20 mg Kortisol möglicherweise auf ACC-Regionen stärker wirken als auf den Hippokampus.

Ebenfalls hergestellt werden konnte ein prädiktiver Zusammenhang zwischen der Stärke der funktionellen Konnektivität in limbischen und paralimbischen Regionen in Ruhe, insbesondere hippokampaler Netzwerke, und dem Ergebnis des Dex/CRH-Tests. Da der Dex/CRH-Test das gesamte zerebrale Feedbacksystem belastet, kann hieraus abgeleitet werden, dass spezifische Netzwerke in beiden Korrelationsrichtungen einen Einfluss auf das Ergebnis des Dex/CRH-Tests haben. Damit wurde erstmals indirekt das Regulationssystem sichtbar gemacht, das durch den Dex/CRH-Test belastet wird. In zukünftigen Studien können die konzentrations- und zeitabhängige Sensitivität der

Zusammenfassung

Ruhenetzwerke gegenüber Kortisol, zusammen mit der funktionellen Konnektivität, die die individuelle Regulation der HPA-Achse vorhersagt, als Grundlage zur Etablierung eines Stressbiomarkes verwendet werden.

1. Einleitung

„Stress ist ein bisschen wie Klimawandel: Beides wird unterschätzt, und wenn man nichts dagegen unternimmt, endet beides katastrophal“ (Ruess und Mai, 2007). Wenn bei Google nach dem Begriff „Stress“ gesucht wird, erhält man knapp 600.000.000 Treffer (Stand August 2012). Es vergeht derzeit auch kaum ein Tag ohne neue Schlagzeile, in der der Begriff „Stress“, oder damit verbundene Folgen, enthalten sind. Dabei könnte der Eindruck entstehen, als wäre Stress erst neuerdings zum Problem der Gesellschaft geworden, oder als hätte die Gesellschaft erst jetzt bemerkt, wie groß die Zahl der Individuen ist, die unter Stress bzw. den damit verbundenen Begleit- und Folgeerkrankungen leiden (Wittchen et al., 2011). Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) hat Stress vor einiger Zeit zu „einer der größten Gesundheitsgefahren des 21. Jahrhunderts“ erklärt. Die omnipräsente Angst vor den wirtschaftlichen Folgen von durch Stress bedingten Arbeitsausfällen mag auch die zahlreichen populärwissenschaftlichen Artikel über Präventionsmaßnahmen erklären. Entscheidend aus wissenschaftlicher Sicht ist zunächst jedoch die weitere Aufklärung der Grundlagenmechanismen zur Entstehung von stressbedingten Krankheiten am Menschen, um gezieltere Präventionsmaßnahmen und Behandlungen zu entwickeln.

Für den Bereich der humanen Gehirnforschung ergeben sich hierfür zahlreiche Fragestellungen: Wie funktioniert die kortikale Stressregulation? Welche unterschiedlichen (Überlebens-)Strategien gibt es? Welche schützen den Organismus? Welche sind anfällig für Fehlregulationen? Was verursacht Fehlregulationen? Wieso betreffen solche Fehlregulationen nicht alle Menschen? Wie groß ist die genetische Komponente? Gibt es evolutionsbiologische Unterschiede in den Regulationsmechanismen? Wie sind die kortikalen Mechanismen mit dem restlichen Organismus verknüpft? Gibt die kortikale Regulation Aufschluss über die Stresskapazität eines Menschen? Welche Informationen aus dem Gehirn können verwendet werden, um zukünftig möglichst spezifische Substanzen zu entwickeln, die in der Prävention oder Behandlung von stressbedingten Erkrankungen eingesetzt werden können?

Diese vorliegende Arbeit soll einen Teil zur humanen Grundlagenforschung beitragen, indem die kortikale Stressregulation und deren möglicher Vorhersagewert für die neuroendokrinologische Stresskapazität im Menschen untersucht werden. Im Rahmen der Einleitung soll zunächst der Begriff Stress definiert und die wichtigste bekannte Regulationsachse im Körper, sowie deren zentrale Kontrollmechanismen, dargestellt werden. Ein Abschnitt zu stressbedingten Krankheiten, bei denen davon ausgegangen wird, dass ihnen eine Dysfunktion der Stressregulation zu Grunde liegt, soll die Bedeutung und Notwendigkeit der im zweiten Einleitungskapitel beschriebenen Biomarkersuche

verdeutlichen. Anschließend wird die für diese Studie ausgewählte Methode für Untersuchungen der Regulationsmechanismen der Stressantwort im Gehirn im lebenden Menschen, die auch ein Potential für die Identifizierung von Biomarkern beinhaltet, beschrieben. Abschließend werden die Möglichkeiten der humanen Stressforschung durch die Kombination aus funktioneller Bildgebung und endokrinologischen Messungen sowie der derzeitige Stand der Veröffentlichungen aufgeführt.

1.1 Stress

Wenn man Menschen bitten würde Stress zu definieren und zu erklären, was bei ihnen Stress erzeugt und wie sie durch Stress beeinflusst werden, ist es wahrscheinlich, dass man ein Dutzend verschiedener Antworten bekommen würde. Der Grund hierfür ist, dass es keine einheitliche Definition für Stress gibt, der jeder Mensch zustimmen würde (The American Institute of Stress, 2012).

Unabhängig von der individuellen Erfahrung gibt es jedoch schon lange Modelle und Studien zur Stressreaktion und Stressregulation des menschlichen Organismus. Diese sollen im folgenden Kapitel im Hinblick auf die durchgeführte Studie einleitend kurz dargestellt werden. Anschließend wird auf die kortikalen Stressregulationsmechanismen und die Regulation der Stressreaktion durch die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (engl. hypothalamus-pituitary-adrenal; kurz HPA-Achse), eingegangen. Die Darstellung der Konsequenzen einer Dysfunktion der Systemregulierung und die sehr wahrscheinlich dadurch ausgelösten Krankheitsbilder schließen das Stresskapitel ab.

1.1.1 Herkunft des Begriffs Stress

Stress (abgeleitet aus dem Lateinischen: *stringere* für *anspannen* und 1936 eingeführt vom österreichischen Biochemiker Hans Selye) wurde ursprünglich als ein körperlicher oder mentaler Druck beschrieben, der durch Auslenkung des bestehenden Gleichgewichts im Körper erzeugt wird (Selye, 1936). Diese temporäre Auslenkung stellt eine Bedrohung für das sonst existierende physiologische (Fließ-)Gleichgewicht im Organismus dar (Holsboer, 2001; Selye, 1976). Stress muss folglich als ein aktiver Prozess gesehen werden, der vom betroffenen Organismus (im Einzelnen auch von der betroffene Zelle bzw. vom betroffenen Organ) eine Reaktion einfordert (Lovallo, 2005; Schulz et al., 2005). Dabei wirkt der Stress solange auf den Organismus ein, bis dessen Kompensationsstrategie die Auslenkung ausgleicht und den Organismus wieder in die Ausgangssituation (Gleichgewicht) bringt, oder die Ursache der Auslenkung entfernt wird und sich die Reaktion des Organismus an die geänderten Umstände angepasst hat (McEwen und Gianaros, 2010; Selye, 1950). In diesem Konstrukt stellt ein Stressor ein Ereignis dar, das eine Bedrohung für die Integrität des

Organismus ist (Kemeny, 2003). Die Stressantwort ist demnach die kompensatorische Maßnahme des Körpers gegen den Stressor, um schnellstmöglich die Ausgangssituation (Gleichgewicht) wiederherzustellen (Boyce und Ellis, 2005; Holsboer und Ising, 2010; Lovallo, 2005).

1.1.2 Geschichte der Stressforschung

Das, was heutzutage mit dem Begriff Stress assoziiert wird, nämlich die unspezifische Antwort des Organismus auf jegliche Herausforderung (Selye, 1976), beruht auf mehreren Modellbeschreibungen und langjährigen, zum Teil auch interdisziplinären Forschungsbemühungen.

Zunächst war die Beschreibung des Konzepts der Homöostase (Cannon, 1932) entscheidend. Darin beschreibt Cannon das physiologische Fließgleichgewicht einer Zelle (übertragbar auch auf ein Organ oder den ganzen Organismus), welches durch ein organisiertes Kontrollsystem den Soll-Zustand im System aufrecht erhält und damit das Überleben des Systems sichert. Das Konzept beruht seinerseits auf der Annahme von Claude Bernard (1885), dass die innere Welt unabhängig von der äußeren im physiologischen Gleichgewicht gehalten werden muss, damit Zellen und Gewebe störungsfrei funktionieren können und damit das Überleben des Organismus gesichert ist. Eine wie auch immer geartete Abweichung aus dem Soll-Zustand stellt eine Bedrohung für das System dar, die schnellstmöglich bekämpft oder beseitigt werden muss, oder der man sich entziehen sollte. Walter Cannon, der neben Hans Selye zu den Urvätern der Stressforschung zählt, übertrug diese Idee auf Organismen. Er erstellte Anfang des 20. Jahrhunderts das noch heute gelehrt Modell zu den Reaktionsmöglichkeiten des Organismus auf Stress. Das Konzept der „Kampf- oder Fluchtreaktion“ (eng. „fight or flight reaction“) beschreibt die beiden Handlungsalternativen eines Organismus im Angesicht einer plötzlich auftretenden Bedrohung (Stressor) (Cannon, 1929).

Einige Jahre später stellte Hans Selye im Tierexperiment fest, dass er ein bestimmtes wiederkehrendes Reaktionsmuster der Tiere auf unterschiedliche Stressoren bekam. Er schloss daraus, dass es einen unspezifischen Anteil in der Reaktion auf Stresssituationen geben muss die, unabhängig vom Stressor, primär der Wiederherstellung der Homöostase dient. Er entwickelte daraus das generelle Anpassungssyndrom (engl. „general adaptation syndrom“) für chronischen Stress (Selye, 1936). Hierbei werden drei Phasen der Stressreaktion unterschieden: die Alarm-, Widerstands- und Erschöpfungsphase.

Die kurzfristige Alarmphase, bei der nach dem anfänglichem Schock durch den Stressor zusätzliche Ressourcen im Körper bereitgestellt und dadurch Reaktionsprozesse initiiert werden, bildet die erste Phase. Diese Alarmphase ermöglicht es dem Organismus, in der daran anschließenden Widerstandsphase die durch den Stressor ausgelöste erhöhte Belastung zu bewältigen. Dauert der Stress allerdings so lange an, dass alle zusätzlich mobilisierbaren Reserven

aufgebraucht sind, gelangt der Organismus in die Erschöpfungsphase (Selye, 1950). In dieser dritten Phase ist die adaptive Kapazität des Organismus ausgeschöpft. Es kommt zur „Immunsuppression“ und in Folge zur Krankheit (Selye, 1953).

Dass Langzeitstress dem Organismus zusätzlich zur unspezifischen Anpassungsreaktion, die bei Chronifizierung durch langfristige Änderung physiologischer Prozesse der Gesundheit schadet, weitere Energie abverlangt, ist also ein altes Konzept, das später von McEwen und Stellar (1993) wieder aufgegriffen wurde. Die physiologische Konsequenz einer Anpassung der neuronalen und endokrinen Stressantwort an chronisch belastende Faktoren im Organismus wird dort als „*allostatic load*“ bezeichnet (McEwen, 1998b). Die damit zusammenhängende Kapazität des Organismus im Umgang mit belastende Faktoren und die daraus resultierenden Konsequenzen sind dabei individuell verschieden und abhängig von der genetischen Disposition sowie von verschiedenen früheren und aktuellen Umweltfaktoren (Homborg, 2012; Korte et al., 2005; McEwen und Stellar, 1993). Erlernte Bewältigungsstrategien durch Anpassung des Verhaltens (engl. coping strategies) sind ebenso wie die biochemische Adaptation lebensnotwendig (McEwen, 1998a). Diese Anpassungsmechanismen beziehen sich dabei sowohl auf physischen Stress wie zum Beispiel Hitze, Kälte, Verletzungstraumata, Infektionen oder Entzündungen, als auch auf psychologischen Stress wie zum Beispiel Furcht, Angst, soziale Niederlagen, Enttäuschungen und sogar extreme Freude (Selye, 1973).

Das komplexe System der Aufrechterhaltung der Homöostase¹ in Ruhe und die schnellstmögliche Wiederherstellung dessen oder die Adaptation nach Stress wurde von Lovallo (2005) in folgende fünf Regulationsebenen unterteilt: 1. Die Organe selbst mit ihren lokalen Reflexbögen; 2. das autonome Nervensystem (Sympathikus/Parasympathikus), das zusammen mit dem neuroendokrinen System (HPA-Achse) die zwei Top-Down-Kommunikationswege vom zentralen Nervensystem zu den einzelnen Organen darstellt; 3. das Stammhirn, das den Output des autonomen Nervensystems überwacht; 4. der Hypothalamus, der die endokrinen Botenstoffe des Körpers steuert sowie die Funktionen des Stammhirns koordiniert; 5. der Einfluss von kortikalen Regionen, die durch Informationen aus der Außenwelt Emotionen, Bewusstsein und Erinnerungen aufnehmen und entsprechend verwerten und weiterleiten.

Im folgenden Abschnitt werden die Regulationsmechanismen im Körper dargestellt, wobei insbesondere die kortikalen Regulationsmechanismen und Netzwerke, sowie deren Verschaltungen zur neuroendokrinen Stressachse (HPA-Achse) für die vorliegende Arbeit von Interesse sind.

¹ Homöostase bezeichnet die Aufrechterhaltung eines Gleichgewichtszustandes in einem dynamischen System. Oft auch als Fließgleichgewicht bezeichnet.

1.1.3 Stressregulationsmechanismen im Körper

Nach Ulrich-Lai und Herman (2009) ermöglichen zwei Mechanismen im Menschen die kurzfristige Adaptation an einen akut auftretenden Stress.

Durch den ersten Mechanismus werden Stresshormone ausgeschüttet, die gespeicherte Energiereserven verfügbar machen. Die Produktion der Stresshormone und die Steuerung der Ausschüttung werden dabei durch das sympathische Nervensystem (SNS) und die HPA-Achse reguliert. Das SNS ist für die Produktion und Ausschüttung der Katecholamine (Noradrenalin und Adrenalin) im Nebennierenmark verantwortlich, wodurch der Organismus in Alarmbereitschaft versetzt wird (Heuser und Lammers, 2003). Zeitgleich wird CRH (engl. corticotropin-releasing hormone) im Hypothalamus produziert und ausgeschüttet, wodurch die Aktivierung der Stressantwort über die HPA-Achse initiiert wird. Die in Folge aus der Nebennierenrinde freigesetzten Glucocorticoide wirken, durch Regulierung und Beendigung der zentralen Verteidigungsreaktionen, als „Antistresshormone“ (siehe Abschnitt 1.3.1 zu Details der HPA-Achse (Heuser und Lammers, 2003)).

Durch den zweiten Mechanismus findet eine Umverteilung der zusätzlich freigesetzten Energie zu Gunsten von Organen und Geweben statt, die für die (akute) Stressantwort entscheidend sind (Ulrich-Lai und Herman, 2009). Das Resultat dieser physiologischen Adaptationsmechanismen ist eine erhöhte Energieverfügbarkeit durch Anregung der Lipolyse² und des Glykogen-Katabolismus³. Zusätzlich wird auch das Immunsystem aktiviert und Immunzellen durch Leukozytose⁴ präventiv vermehrt (Dhabhar und McEwen, 1997). Metabolische Prozesse, die eher über das parasympathische System gesteuert werden (zum Beispiel Magen-Darm-Trakt-Funktionen oder Reproduktionsfunktionen), werden dabei zeitgleich unterdrückt (Schneiderman et al., 2005).

Diese Mechanismen sind für kurzfristigen Stress, wie im Kampf um das Überleben bei der Flucht vor Raubtieren angelegt und waren dafür evolutionsbiologisch für den Organismus von Vorteil. Wie schon von Selye vor über 60 Jahren postuliert, kommt es bei (dauerhaften) Überlastung dieses Regulationssystems durch die über die Kapazitätsgrenze hinausgehende Belastung zu Änderungen der fein regulierten physiologischen Abläufe im Stressregulationssystem. Wenn nicht durch den Tod beendet, kann es in Folge der Überbelastung zu einer langfristigen Beeinträchtigung des Stress(regulations)systems auf mehreren Ebenen kommen, die dramatische

² Lipolyse ist der Prozess bei dem Fett in Fettsäuren gespalten wird. Damit wird die in Fett gespeicherte Energie für den Körper verfügbar gemacht.

³ Glykogenolyse ist der Abbau von Glykogen in der Leber zu Glucose und Glucose-1-Phosphat. Glykogen wird bei einem Überschuss an Kohlenhydraten in Muskel- und Leberzellen aufgebaut, um die überschüssige Energie zu speichern.

⁴ Leukozytose bezeichnet die Vermehrung von Leukozyten.

Konsequenzen für den gesamten Organismus haben (de Kloet et al., 2005; Holsboer, 2000).

Es ist bereits bekannt, dass eine engmaschige kortikale Koordination des Stressregulationssystems, einschließlich der HPA-Achse, im Organismus durch ein Netzwerk an limbischen und nicht-limbischen kortikalen Arealen erfolgt (Dedovic et al., 2009b; Jankord und Herman, 2008). Der Regulationsmechanismus über die HPA-Achse, die selbstregulierende negative Rückkopplung und involvierte kortikale Areale, sowie die dafür nötigen Rezeptoren, werden im folgenden Abschnitt beschrieben. Die enge Verknüpfung über den direkten und indirekten Einfluss der kortikalen Areale auf die HPA-Achse und die bottom-up Rückkopplungsmechanismen sind eine wichtige Grundlage für die durchgeführten Kombinationsstudien (Bildgebung und Endokrinologie) auf der Suche nach Biomarkern der Stresskapazität.

1.1.4 Regulationssystem HPA-Achse

Die HPA-Achse ist ein hierarchisch organisiertes neuroendokrines System, das unter anderem die Freisetzung des Stresshormons Kortisol, eines der wichtigsten Hormone in der Stressantwort, in der Nebennierenrinde steuert (siehe Abbildung 1 (Frodl und O'Keane, 2012)). Das hypothalamische Hormon, das diese Achse antreibt, ist das Kortikotropin freisetzende Hormon (CRH), welches hauptsächlich im parvozellulären Teil des peri-ventrikulären Nukleus (PVN) des Hypothalamus produziert wird. Die Zielrezeptoren für CRH liegen unter anderem in der Hypophyse (Jacobson und Sapolsky, 1991; Jankord und Herman, 2008; Lovallo, 2005). Zusätzlich wirkt auch Arginin-Vasopressin (AVP), das im magnozellanulären Teil des PVN produziert wird, auf diese Rezeptoren (Keck, 2006; Lovallo, 2005).

Durch das Zusammenwirken dieser beiden Moleküle wird in der Hypophyse die Synthese und Ausschüttung von Adrenokortikotropin freisetzendem Hormon (engl. adrenocorticotropin releasing hormon; ACTH) veranlasst. ACTH wird von der Hypophyse in den systemischen Blutkreislauf abgegeben und gelangt so zu den Effektorrezeptoren in der Nebennierenrinde, wo es die Produktion und Ausschüttung von Kortisol verursacht (Squire et al., 2003). Durch die negative Rückkopplungswirkung von Kortisol ins Gehirn und vor allem durch die Rückkopplung an der Hypophyse wird die Synthese von CRH und ACTH gedrosselt. Damit ist die endokrinologische Rückkopplungsschleife, die die Kortisolproduktion und Ausschüttung steuert, geschlossen.

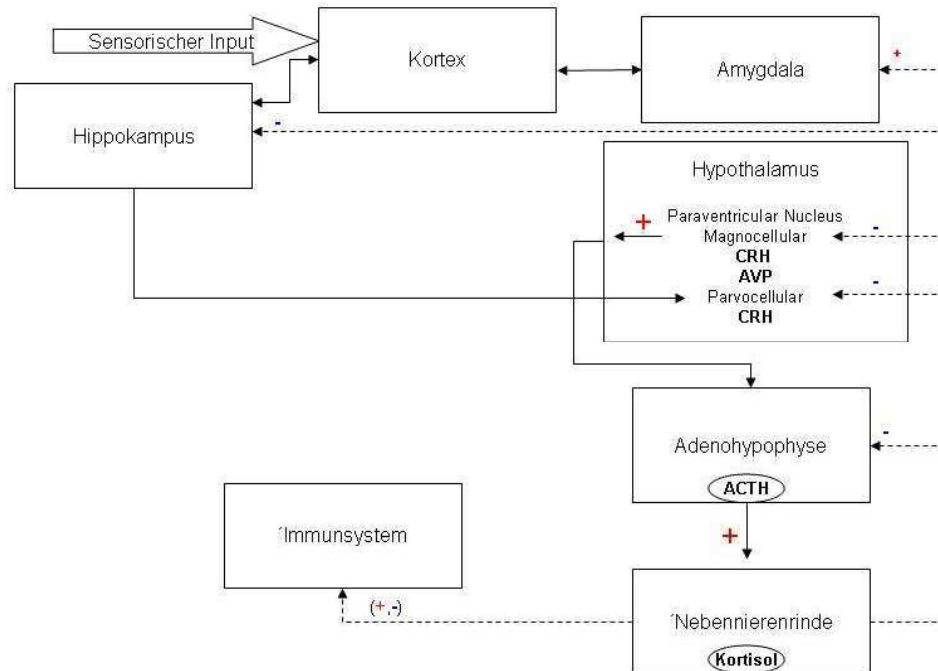


Abbildung 1: Schematische Darstellung der HPA-Achse mit Kortisol Rückkopplungsschleife (modifiziert nach Lovallo 2005)

Die Glucocorticoidausschüttung (GC-Ausschüttung) ist eine metabolisch „teure Investition“ für den Körper, da auch katabolische Prozesse in Gang gesetzt werden. Dies hat zur Konsequenz, dass die Regulation dieser Signalkaskade auf mehreren Ebenen stattfindet. Es werden dabei zwei Mechanismen für die Rückkopplungsregulation durch Kortisol unterschieden (Makara und Haller, 2001):

1. die schnelle Inhibition der GC-Ausschüttung über nicht-genomische Mechanismen, die hauptsächlich auf Ebene der Hypophyse, aber auch im Gehirn über die CRH-Neurone im PVN, die die Produktion und Ausschüttung von CRH bzw. ACTH regulieren, wirkt, und

2. ein zeitverzögerter genomischer Effekt, der vor allem zentral wirksam ist (Fulford und Harbuz, 2005; Herman, 2011). Abhängig vom Rezeptor (siehe nächsten Abschnitt) wird über Stimulation bzw. Inhibition die Gentranskription moduliert, was in Folge die Proteinsynthese verändert (Fulford und Harbuz, 2005) und somit zu lang anhaltenden Änderungen in der neuronalen Funktion führt (Joels und de Kloet, 1994).

Insgesamt bewerkstelligen die nicht-genomischen und genomischen Rückkopplungsprozesse der HPA-Achse auch kognitive und emotionale Prozesse, die der Verhaltensadaptation bei Stress zu Grunde liegen. Dabei ist Kortisol essentiell und der Organismus wird nicht alleine durch die effiziente Ausschüttung, sondern vielmehr durch die effektive Downregulation der Kortisolausschüttung geschützt (de Kloet et al., 2011). Zwei Arten von Rezeptoren sind dabei für die

Kortisol-Rückkopplung entscheidend, deren Bedeutung für die Integrität der HPA-Achse im nächsten Abschnitt behandelt wird.

1.1.5 Das Glucocorticoid Kortisol und die Rezeptoren im Gehirn

Einleitend soll an dieser Stelle kurz betont werden, dass die Kortisolausschüttung nicht nur unter Stressbedingungen stattfindet, sondern Kortisol auch im natürlichen Tagesablauf stündlich pulsartig produziert und ausgeschüttet wird (de Kloet et al., 2011). Es wird vermutet, dass die natürliche zirkadiane Ausschüttung an die Zeitgeber des Gehirns gekoppelt ist. Zu diesen gehört vor allem der Nucleus suprachiasmaticus (SCN), der für die Regelung von Abläufen im Organismus, die dem Schlaf-Wach-Rhythmus folgen, entscheidend ist (Edwards et al., 2001).



Abbildung 2: Darstellung der zirkadianik der physiologischen Kortisolausschüttung (modifiziert nach Guyton(2000))

Der humane Organismus verfügt über zwei Glucocorticoidrezeptoren, die eine unterschiedliche Bindungsaffinität für Kortisol aufweisen und verschiedene bzw. komplementäre Aufgaben in der Regulation der tageszeitabhängigen veränderten Kortisolkonzentration übernehmen ((de Kloet et al., 2011) siehe auch Abbildung 3). Die zwei für die Regulation der HPA-Achse entscheidenden Glucocorticoidrezeptoren (GCR) sind der Mineralcorticoidrezeptor (MR) und der Glucocorticoidrezeptor (GR) (de Kloet, 1991; Heuser, 1998). Die Regulation über den MR ist unter Basalkonzentration (ohne Stress) vorherrschend, da seine Affinität zu Kortisol um das 6 bis 10-fache höher ist als die des GR. Ein weiterer Unterschied ist die daraus folgende prozentuale Kortisolbindung, die an MRs zwischen 70-90% und an den GRs zwischen 10-90% liegt (Heuser, 1998). Das bedeutet, dass Kortisol praktisch immer an den MR gebunden ist. Der MR scheint also vor allem für die negative Rückkopplung des Kortisols während der tagesrhythmischen Zyklen zuständig zu sein (de Kloet et al., 1998). Dagegen binden GR Kortisol nur bei den hohen bzw. erhöhten Konzentrationen und

regulieren somit sowohl während der Peakzeiten im natürlichen Tagesrhythmus, als auch bei erhöhter Ausschüttung von Kortisol, unter Stress, die Reaktion (Lovallo, 2005).

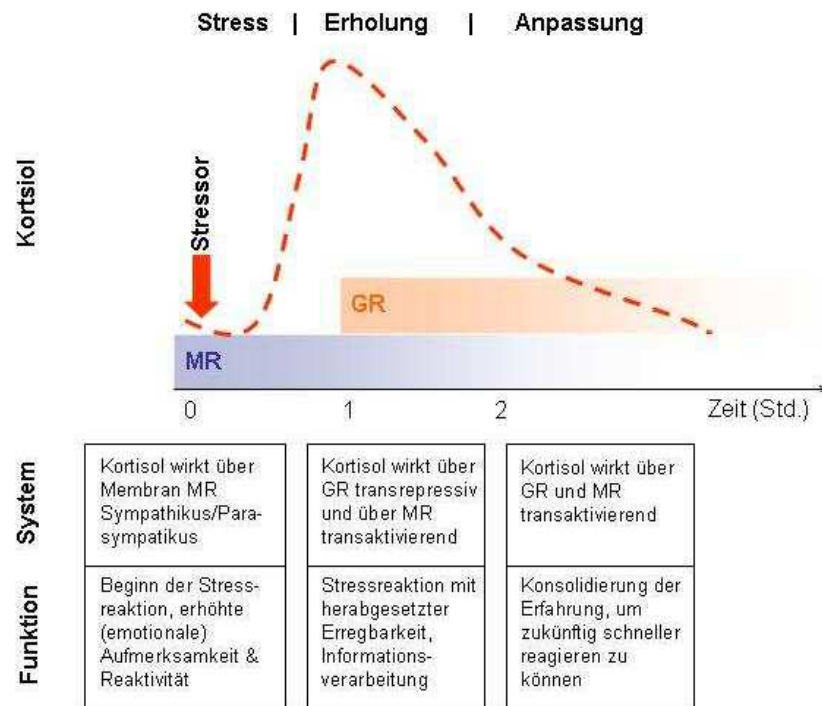


Abbildung 3: Komplementäre Wirkungen der beiden Rezeptortypen nach einem Stressor und deren Bedeutung. Abbildung modifiziert nach de Kloet et al. (2011)

Aldosteron hat eine ähnliche Affinität zum MR wie Kortisol, während das künstliche Glucocorticoid Dexamethason eine niedrigere Bindungsaffinität zum MR hat. Dagegen ist die Bindeaffinität an den GR für Dexamethason stärker als für Kortisol aber auch glucocorticoidspezifisch, da der GR keine Mineralcorticoide wie Aldosteron binden (Fulford und Harbuz, 2005).

Die Bedeutung der GC, neben den vielfältigen metabolischen Funktionen (Bamberger et al., 1996; Chrousos und Gold, 1992) für die kortikale Stressregulation, spiegelt sich in der dichten Verteilung im Zentralnervensystem wieder. Die Verteilungsdichte der Rezeptoren ist dabei je nach Region unterschiedlich. Hinzu kommt, dass innerhalb einer Region Zellen nur einen oder beide Rezeptortypen exprimieren können (de Kloet et al., 1998; de Kloet, 2004). Dabei ist die Verteilung der MRs außerhalb des Hypothalamus auf den Hippokampus und sensorische sowie motorische Regionen begrenzt (Reul et al., 2000). Der GR ist neben dem Hypothalamus und der Hypophyse auch in zahlreichen anderen Gehirnregionen zu finden, einschließlich des Hirnstamms, der Amygdala, des Hippokampus und den präfrontalen Regionen (de Kloet et al., 1998; Fulford und Harbuz, 2005; Herman et al., 1993).

Anhand der Rezeptorverteilung im Gehirn wird bereits deutlich, dass die Wirkorte von Kortisol vielfältig und nicht nur auf die Eigenregulation über die

negative Rückkopplung beschränkt sind. Um die Effekte zu untersuchen, die Kortisol auch auf höher geordnete Gehirnregionen hat, die ihrerseits über neuronale Verbindungen einen Teil der kortikalen Stressregulation beeinflussen, gibt es im Menschen verschiedene Möglichkeiten. Dazu werden die strukturellen oder funktionellen Veränderungen unter veränderten Kortisolbedingungen, wie sie durch pharmakologische Modulation, physiologische Änderungen, krankheitsbedingt oder durch spezielle Testverfahren verursacht werden, untersucht. Dabei wurde dieser Effekt von Kortisol auf andere, höhere kortikale Bereiche, insbesondere bei der Untersuchung der negativen Rückkopplungsregulation der HPA-Achse, jahrelang vernachlässigt (de Kloet et al., 1998).

Die stressinduzierte Kortisolausschüttung bzw. deren Regulationsmechanismen haben auch das Potential, als Biomarker für stressbedingte Krankheiten zu dienen. Dazu müssen noch jene Umstände weiter untersucht werden, die zu einem Zusammenbruch der normalen Adaptionsleistung des Systems führen. Es ist schon länger bekannt, dass eine chronische Überproduktion von Glucocorticoiden bzw. eine chronische therapeutische Glucocorticoidgabe bestimmten Gehirnregionen schadet. Dabei sind speziell jene Bereiche betroffen, die für die HPA-Achsen-Regulierung aufgrund des GC-Rezeptor vermittelten Feedbacks und damit verbundene Regelkreisläufe relevant sind (Herbert et al., 2006; McEwen, 2005; Sapolsky, 2000a). Darauf basiert auch die von Holsboer (2000) postulierte Corticosteroid-Rezeptor-Hypothese der Depression.

Des Weiteren ist bekannt, dass eine Imbalance der MR/GR vermittelten Regulationsmechanismen (MR/GR-Balance-Hypothese) den Kreislauf der Stressregulation destabilisiert und damit zu einer neuroendokrinen Dysfunktion und in Folge zu Fehlanpassungen des Verhaltens bei Stress führt (de Kloet et al., 2011). Die durch eine Imbalance zwischen MR und GR vermittelten Signale in Neuronen des limbischen Systems führen zu einer inadäquaten Reaktion der HPA-Achse auf Stress und zu einer beeinträchtigten negativen Rückkopplung. Dies führt zu einer verspäteten Erholung des Organismus von der Stresssituation und damit zu einer beeinträchtigten Anpassung des Stresssystems, was langfristig die Anfälligkeit für affektive Störungen erhöhen kann (de Kloet et al., 1998). Der Status der HPA-Achse ist folglich ein Indikator für die Kapazität des Stressregulationssystems bzw. den Grad deren Dysregulation (Harris et al., 2012). Eine Möglichkeit, um die Kapazität bzw. den Status der Regulationsfähigkeit der HPA-Achse im Menschen zu untersuchen, ist der kombinierte Dexamethason-Suppression-CRH-Stimulations-Test, kurz Dex/CRH-Test (Holsboer und Ising, 2010; Ising et al., 2007), der im folgenden Abschnitt erläutert wird.

1.1.6 Die Untersuchung der HPA-Achsen-Kapazität mit dem Dex/CRH-Test

Der Dex/CRH-Test ist ein standardisierter neuroendokrinologischer Test zur Untersuchung der HPA-Achse (Heuser et al., 1994a; Heuser et al., 1994b;

Holsboer, 1987). Der Test kann sowohl in Gesunden zur Beschreibung der normalen Funktion der HPA-Achse eingesetzt werden, als auch zur Quantifizierung der Dysregulation der HPA-Achse, zum Beispiel bei affektiven Störungen (Heuser et al., 1994a; Holsboer et al., 1995; Ising et al., 2005b; Ising et al., 2007).

Die Messung des HPA-Systems ist auch ein sehr sensibles Verfahren unter den derzeit verfügbaren neuroendokrinen Messverfahren, die zu einem frühen Zeitpunkt eine Erfolgsvorhersage über die Therapie bei depressiven Patienten ermöglicht (Heuser et al., 1994a; Holsboer, 2000). Der Dex/CRH-Test ist dabei eine Weiterentwicklung des Dexamethason-Suppressionstests⁵, der klinisch unter anderem zum Ausschluss eines Cushing-Syndroms eingesetzt wird (Ising et al., 2005b).

Der Dex/CRH-Test besteht in einer gekürzten Form (Heuser et al., 1994a) aus der Einnahme von 1,5 mg Dexamethason⁶ zur Vorbereitung um 23 Uhr an einem Tag und am darauffolgenden Tag aus einer Blutabnahme sowie einer daran anschließenden CRH-Bolusinjektion (100 µg) und vier weiteren Blutabnahmen über einen Zeitraum von 75 Minuten, um die Kortisol- und ACTH-Antwort auf die CRH-Injektion zu untersuchen. Bei Gesunden wird durch die Dexamethasoneinnahme eine vermehrte Ausschüttung von ACTH und Kortisol, vor allem auf Ebene der Hypophyse, stark unterdrückt. Im Gegensatz dazu wird die ACTH- und Kortisolsekretion bei den meisten depressiven Patienten nicht bzw. nicht vollständig supprimiert (Heuser et al., 1994a; Holsboer, 2000; Zobel et al., 2001). Das Fehlschlagen der Suppression in depressiven Patienten wird dabei auf eine Dysfunktion der GR-vermittelten negativen Rückkopplung bei den Patienten zurückgeführt (Ising et al., 2005a). Über die Bestimmung der Plasmakonzentrationen von ACTH und Kortisol nach CRH-Stimulation über die Zeit, kann die Integrität der HPA-Achse signifikant sensitiver als bei einer reinen Plasmakonzentrationsmessung oder dem Dexamethason-Suppressionstest gemessen werden.

Der Vorteil der Kombination ist eine Sensitivität des Tests gegenüber dysfunktionaler GR auf Ebene der Hypophyse, bei gleichzeitiger Sensitivität für eine erhöhte CRH- und AVP-Ausschüttung in Konsequenz einer GR-Dysfunktion (Holsboer und Barden, 1996; Keck und Holsboer, 2001). Aus diesem Grund wurde der Test vor einiger Zeit auch als Biomarker zur Prädiktion einer Therapieansprache bei affektiven Störungen, insbesondere der Depression, vorgestellt (Ising et al., 2007). Bezüglich der Sensitivität des Tests und damit bezüglich der Frage, ob er sich zur verlässlichen Vorhersage einer

⁵ Der Dexamethasonsuppressionstest ist ein Provokationstest bei dem eine geringe Menge Dexamethason verabreicht wird und die Suppressionsfähigkeit auf die Kortisol- und ACTH-Ausschüttung über die Zeit ermittelt wird.

⁶ Dexamethason ist ein synthetisches lang wirksames Glucocorticoid (Serum-Eliminationshalbwertszeit 250 ±80 Minuten). Es hat eine 30-mal stärkere Wirksamkeit als Hydrocortison, wobei mineralcorticoide Wirkungen fehlen.

Therapieantwort bei allen Patienten mit affektiven Störungen einsetzen lässt, gibt es unterschiedliche Meinungen.

Zum einen sind Veränderungen der HPA-Achse während einer akuten Krankheitsepisode der Depression und deren Normalisierung nach erfolgreicher Medikation sehr konsistente Laborbefunde bei Patienten mit affektiven Störungen (Holsboer, 2000; Holsboer und Barden, 1996; Ising et al., 2005a). Umgekehrt wurde auch beobachtet, dass eine unvollständige Rückbildung einer erhöhten Kortisol- bzw. ACTH-Ausschüttung im Dex/CRH-Test mit einem erhöhten Rückfallrisiko einhergeht (Ising et al., 2005b; Ising et al., 2007).

Zum anderen gibt es auch Patienten, die trotz einer frühen HPA-Achsen-Normalisierung nach Medikationsbeginn einen ungünstigen Krankheitsverlauf durch ein Nichtansprechen auf ihre Medikation haben, sowie Patienten, die schon vor dem Beginn der pharmakologischen Therapie eine normale HPA-Achsen-Funktion aufweisen (Schule et al., 2009). Zusätzlich gibt es auch Abweichungen des HPA-Systems bei anderen Krankheiten, zum Beispiel bei Angststörungen (Schreiber et al., 1996), Schizophrenie (Lammers et al., 1995), Multiple Sklerose (Bergh et al., 1999) oder auch Morbus Cushing-Patienten (Yanovski et al., 1998).

Diese Befunde schränken die Selektivität des Dex/CRH-Tests ein, aber beeinflussen nicht die Sensitivität bei der Untersuchung von Störungen der HPA-Achse. Für die Verwendung des Dex/CRH-Tests als „Fenster zum Gehirn“, um die Kapazität eines (gesunden) Menschen zu untersuchen, die Homöostase des Stressregulationssystems nach einer Stressantwort wieder herzustellen, gibt es bislang keine vergleichbare Methode (Holsboer und Ising, 2010).

Die HPA-Achse, auch wenn sie die wichtigste neuroendokrinologische Achse der Stressantwort ist, ist nicht alleine für die Stressantwort verantwortlich. Der Hypothalamus als zentraler Bestandteil der HPA-Achse steht mit zahlreichen Gehirnregionen in Verbindung, die erst das Vorhandensein eines Stressors registrieren und diese Information an den Hypothalamus kommunizieren. Diese Gehirnregionen bzw. Netzwerke werden im Folgenden näher dargestellt.

1.1.7 Kortikale Kontrollmechanismen der HPA-Achse

In die Regulation der HPA-Achse sind verschiedene hierarchisch organisierte Netzwerke des Gehirns involviert, die unter anderem für die Integration von für die Stressreaktion relevanten Informationen, sowohl interner, als auch externer Natur, zuständig sind (Ziegler und Herman, 2002).

Die Modulation der HPA-Achse über kortikale Netzwerke ist normalerweise zeitlich auf die Stresskonfrontation beschränkt. Die dafür verantwortlichen Signale haben, wie im Tiermodell gezeigt, dabei zwei mögliche Wege zur Signalübertragung: einen direkten Weg über neuronale Verschaltungen, die für die Homöostase verantwortlich sind, und einen indirekten Weg über die multisynaptischen Verschaltungen des limbischen System mit dem präfrontalen Kortex (PFC) (Herman, 2011). Die Neurone des Nucleus paraventricularis (PVN)

im Hypothalamus, dem Knotenpunkt der kortikalen Regulierung der HPA-Achse, bekommen dabei direkten inhibitorischen Input von den Neuronen der Stria terminalis (Bed Nucleus der Stria terminalis; kurz BNST) und verschiedener hypothalamischer Kerne (Herman et al., 2005; Radley et al., 2009) sowie stimulierenden Input vom Hirnstamm, einschließlich der Neurone des Nucleus tractus solitarii (NTS) (Herman et al., 2005). Diese direkten Signalübertragungswege werden dabei massiv durch limbische Strukturen beeinflusst. Diese limbischen Strukturen sind ihrerseits auch direkt bei der Antwort auf psychogenen Stress beteiligt. Weshalb diese Regionen auch sehr wahrscheinlich bei Stresserkrankungen direkt betroffen sind (Herman, 2011). Die inhibitorischen Verschaltungen bekommen ihrerseits aber auch exzitatorischen Input vom Hippokampus über das ventrale Subiculum (Herman und Mueller, 2006) und dem medialen PFC sowie über prälimbische Regionen (Herman et al., 2004). In der Summe führen alle diese Signale zu einer Inhibition der Stressantwort (Herman, 2011).

Zusätzlich zu den exzitatorischen bekommen die inhibitorischen PVN-Teile GABAergen Input von der medialen und zentralen Amygdala (Swanson und Petrovich, 1998), was zu einer Disinhibition des PVN und damit zur Aktivierung der HPA-Achse führt (Herman et al., 2003). Die exzitatorischen Anteile des PVN, wie der BNST und NTS, bekommen stattdessen einen direkten Input von den glutamatergen Neuronen der infralimbischen Region des mPFC (Herman, 2009). Der PVN als Integrationszentrum kann also sowohl stimulierend über exzitatorischen Einfluss, als auch inhibierend über inhibitorische Modulation, auf die HPA-Achse wirken (Herman, 2011).

Dieser Ausschnitt der Verschaltungen relevanten Gehirnbereichen lassen ein kompliziertes Netzwerk hinter der Regulation der Stressantwort über die HPA-Achse erahnen, was auch die Schwierigkeit der Erforschung der (krankheitsbedingten veränderten) Kontrollnetzwerke erklärt. Hinzu kommt, dass unterschiedliche Anforderungen an das Stressreaktionssystem, je nach Stressorart, verschiedene (Sub-)Regionen bzw. Regulationsmechanismen beanspruchen. So wurde im Tiermodell gezeigt, dass beispielsweise die Habituation⁷ der HPA-Achse andere Regelkreisläufe aktiviert als die akute Stressantwort.

Eine im Experiment herbeigeführte Läsion des paraventriculären Thalamus verhinderte die Habituation der Kortikosteronantwort (Kortikosteroide sind das Kortisoläquivalent in Tieren) auf einen physischen Stressor, ohne dabei generell die akute GC-Antwort zu behindern (Bhatnagar et al., 2002). Dieser Thalamusteil erhält neuronalen Input aus dem ventralen Subiculum und projiziert seinerseits

⁷ Habituation bezeichnet eine einfache und oft unbewusste Form des Lernens. Habituation setzt ein, wenn ein wiederholter Reiz als unbedeutend klassifiziert wurde. Die Reaktion auf den Reiz schwächt sich immer mehr ab bis zu dem Punkt an dem die Reaktion vollständig ausbleibt.

zum zentralen Amygdalakern und dem Hypothalamus, was für eine wichtige Rolle dieser Region für die kortikale Modulation der HPA-Achse spricht (Herman, 2011). Des Weiteren wurde in Studien mit GR-Knockoutmäusen⁸ gezeigt, dass die Präsenz von GR im Vorderhirn (speziell im Hippokampus, Kortex und Amygdala) essentiell für HPA-Achsen-Antwort nach einem psychogenen Stressor ist (Boyle et al., 2005; Furay et al., 2008), wohingegen die Antwort auf systemische Stressoren in diesen Mäusen trotz GR-Knockout erhalten bleibt.

Dieser Befund deutet darauf hin, dass die Regulation der Feedback-Inhibition der HPA-Achse nicht nur von verschiedenen Gehirnregionen abhängig ist, sondern auch mit der Art des Stimulus variiert (Herman, 2011). Diese Annahme wird durch Studien bestärkt, die zeigten, dass Schäden im ventralen Subiculum und prälimbischen Kortex (äquivalent zum humanem präfrontalen Kortex, PCF) zu einer verlängerten GC-Sekretion nach psychogenem Stress, aber nicht nach systemischem Stress führten (Diorio et al., 1993; Herman et al., 1998; Muller et al., 2004). Eine solche spezifische Modulation je nach Region und Stressorart gilt dabei nicht nur für die gesamten Kontrollnetzwerke, sondern auch im Einzelnen für wichtige Regionen der kortikalen Kontrolle der Stressantwort, wie zum Beispiel dem Hippokampus.

Die genaue Funktion des Hippokampus im negativen Feedback der HPA-Achse ist noch nicht vollständig geklärt, wobei dem Hippokampus generell eine inhibierende Rolle im Stressregulationssystem zugeschrieben werden kann (Dedovic et al., 2009b; Herman et al., 2005). Der Hippokampus ist maßgeblich am Beenden der durch Stress initiierten HPA-Achsen-Antwort beteiligt, eine Erkenntnis, die auf zahlreichen Befunden in Tier- und Humanstudien beruht. Im Tiermodell wurde zum Beispiel eine verminderte Kortikosteroonausschüttung nach elektrischer Stimulation des Hippokampus berichtet (Dunn und Orr, 1984). Dies wurde auch zuvor schon von Rubin et al. (1966) mittels elektrischer Stimulation im Menschen beobachtet. Zusätzlich zeigten Läsionsstudien bei Tieren, die die Kommunikation zwischen Hippokampus und PVN unterbrechen, eine Erhöhung der basalen GC-Konzentration und eine erhöhte Reaktivität auf Stress (Herman et al., 1992; Herman et al., 2003; Jacobson und Sapolsky, 1991). Auch Patienten, die an einer Stressfolgeerkrankungen leiden, zeigen oft einen Hyperkortisolismus (Raison und Miller, 2003), der in Zusammenhang mit hippokampalen anatomischen Veränderungen (Duman, 2002; Papagni et al., 2011), oder funktionalen Defiziten gebracht wird (Hinkelmann et al., 2009).

Bei Menschen mit arteriellen Erkrankungen, zeigten jene, die ein kleineres Hippokampusvolumen haben, eine schlechtere tagesrhythmische Kortisolregulation (Knoops et al., 2010). Dabei wirkt sich generell eine verminderten Downregulation der Kortisolproduktion am Abend auf eine erhöhte Kortisolproduktion tagsüber aus (Lovallo, 2005). Kleinere Hippokampusvolumina

⁸ Eine Knockoutmaus ist eine Maus in der ein oder mehrere Gene durch genetische Manipulation deaktiviert wurden, um die Funktion oder Bedeutung dieser Genprodukte zu untersuchen.

wurden auch bei Personen gefunden, die ein geringeres Selbstwertgefühl haben, was mit einer erhöhten Aktivität der HPA-Achse und einer mangelnden Habituation an wiederholten Stress einherging (Pruessner et al., 2005). Des Weiteren wurde auch eine inverse Korrelation zwischen Selbstwertgefühl und der Kortisolausschüttung in der Stressantwort berichtet (Kirschbaum et al., 1995; Pruessner et al., 1999). All diese Befunde lassen auf eine inhibierende Einflussnahme des Hippokampus auf die HPA-Achse schließen.

Dagegen wird der Einfluss der Amygdala auf die HPA-Achse generell als stimulierend postuliert (Herman et al., 2005). Dies basiert unter anderem auf dem Befund, dass eine elektrische Stimulation der Amygdala zu einer erhöhten Ausschüttung von Kortisol führt (Gallagher et al., 1987; Jankord und Herman, 2008; Redgate und Fahringe, 1973). Der aktivierende Einfluss auf die HPA-Achse wird hauptsächlich über den medialen und zentralen Kern der Amygdala vermittelt, deren Hauptprojektionsneurone verzweigte Verbindungen zum frontalen Kortex, dem Hippokampus sowie auch zu Strukturen im Hypothalamus und Hirnstamm beinhalten (Jankord und Herman 2008). Da diese beide Amygdalakerne hauptsächlich aus Neuronen mit GABAergen Projektionen bestehen, findet die Aktivierung der HPA-Achse sehr wahrscheinlich über die Entfernung des inhibierenden Einflusses (sogenannte Disinhibition), vornehmlich bei psychologischen Stressoren (Dayas et al., 2001), statt (Herman et al., 2003). Dem zentralen Kern der Amygdala wird dagegen eine Schlüsselrolle in der Stressintegration zugeordnet, da dieser Teil besonders durch Störung der Homoöstase (Sawchenko et al., 2000) und durch systemische Stressoren aktiviert wird (Dedovic et al., 2009b; Xu et al., 1999). Des Weiteren verfügt die Amygdala auch über GR und MR, was auf eine Einflussnahme auf die Regulation der HPA-Achse sowohl unter basalen, als auch Stressbedingungen, schließen lässt (Herman et al., 2005).

Eine weitere Schlüsselregion ist der PFC. Die Bedeutung des PFC, insbesondere des medialen PFC (mPFC), ist die kortikale Kontrolle der Stressantwort (Gratton und Sullivan, 2005). Die Einflussnahme des mPFC auf die HPA-Achse und die Stressregulation ist dabei ebenso kontext- wie stressorspezifisch und regional innerhalb des mPFC unterschiedlich (Herman et al., 2003).

Im Tiermodell wird dem prälimbischen Anteil des mPFC die Inhibition der HPA-Achse bei psychologischen Stressoren zugeschrieben, womit er die Dauer der GC-Ausschüttung reguliert (Ulrich-Lai und Herman, 2009). Im Gegensatz dazu sind die ventromedialen und cingulären Anteile des mPFC an der Initiierung der Stressantwort beteiligt (Radley et al., 2006). Dem gesamten PCF wird die Rolle einer exekutiven Kontrollregion zugeschrieben, und seine Position sowie anatomischen Verbindungen erlaubt eine Einflussnahme sowohl auf die physiologische, als auch auf die behaviorale⁹ Stressantwort (Gratton und Sullivan,

⁹ auf das Verhalten bezogen

2005). Der orbitale mPFC erhält sensorischen, limbischen und kortikalen Input, der die Integration von visceralsensorischen Informationen mit affektiven Signalen ermöglicht (Price, 1999). Der ventrale mPFC erhält vor allem von der Amygdala und dem ventralen Hippokampus (Subiculum) exzitatorischen Input und sendet seinerseits Signale an hypothalamische Kerne und verschiedene Areale im Hirnstamm die in der Emotions- und Stressverarbeitung beteiligt sind (Gratton und Sullivan, 2005). Im PFC ist auch eine hohe Dichte an GR nachweisbar, was für eine Rolle im Feedbacksystem der HPA-Achse spricht (McEwen et al., 1986; Sanchez et al., 2000). Eine wichtige Rolle des PFC für den GC-Gehalt im Gehirn wurde in einer Studie gefunden, die an Medizinstudenten durchgeführt wurde, die sich auf das Staatsexamen vorbereiteten. Dabei zeigte sich eine reversible funktionelle Beeinträchtigung des PFC während dieser erhöhten Stresserfahrung (Liston et al., 2009). Funktionelle Beeinträchtigungen bei neuropsychiatrischen Krankheiten machen den PFC ebenfalls zu einem „Hot Spot“ (Dedovic et al., 2009b; Greicius et al., 2007; Matthews et al., 2008).

Zusammenfassend soll hervorgehoben werden, dass die kortikale Regulation bzw. deren Einfluss auf die Stressantwort sehr komplex ist und sowohl stressortypabhängig ausfällt, als auch regional spezifisch. Dabei übernehmen sicherlich nicht einzelne Regionen die Modulation der Stressantwort, sondern es scheint verschiedene Netzwerke mit unterschiedlicher regionaler Beteiligung zu geben. Die verschiedenen Subregionen der relevanten Regionen, die für die „normale Stressantwort“ verantwortlich sind, müssen dabei nicht deckungsgleich mit den Regulationsnetzwerken bei chronischem Stress sein (Jankord und Herman, 2008). Die Chronifizierung von Stress scheint daher eine andere Anforderung an die Regulationsmechanismen im Organismus zu stellen als akuter Stress. Die zugrunde liegenden Mechanismen auch dieser Regulationsänderungen gilt es in Zukunft (näher) zu erforschen, da es inzwischen eine sehr solide Evidenz dafür gibt, dass Regulationsstörungen oder Dysfunktionen der HPA-Achse für die Entwicklung affektiver Störungen eine kausale Rolle spielen (Herman, 2011; Holsboer, 2000). Des Weiteren zielen verschiedene derzeit verwendete pharmakologische Ansätze zur Behandlung affektiver Störungen unter anderem auch auf die Rekonstitution dieser gestörten physiologischen Regulation der HPA-Achse ab (Binder et al., 2009; McKay und Zakzanis, 2010; Schule, 2007).

Im folgenden Abschnitt werden kurz die Zusammenhänge und Befunde einer gestörten Regulation der HPA-Achsen und deren Auswirkungen auf neuropsychiatrische Krankheiten am Beispiel der Depression, einer der häufigsten durch Stress bedingten Krankheiten, beschrieben.

1.1.8 Befunde zu strukturellen und funktionellen Veränderungen des Gehirns bei stressbedingten psychiatrischen Erkrankungen

Die körperliche und psychische Reaktion auf Stress ist für eine akute oder zumindest zeitlich begrenzte Konfrontation mit einem Stressor angelegt. Diese

zeitliche Begrenzung machte die metabolischen Begleiterscheinungen (anabole, katabole und immunsuppressive Effekte) der Stressantwort, die temporär dem Organismus nützen, für diesen nicht schädlich, d. h. sie bleiben ohne langfristige Konsequenzen für den Organismus (Chrousos und Gold, 1992).

Nach heutigem Wissenstand werden viele psychiatrische Krankheiten auf eine chronische Überbelastung des Stresssystems zurückgeführt (Herman et al., 2005). Eine Überbelastung dieses Systems ist vor allem von Veränderungen in der GC-Produktion und -Ausschüttung begleitet. Dies legt den Schluss nahe, dass Dysfunktionen oder Defekte in der Kontrolle der Stressregulation, insbesondere jener der HPA-Achse, stressbedingten psychiatrischen Krankheiten zugrunde liegen (Holsboer, 2000). Eine dauerhaft veränderte Konzentration der GC und die daraus folgende dauerhafte Änderungen der Funktion der HPA-Achse, führt bei depressiven Patienten oft zu einer Resistenz gegenüber den GC vermittelten negativen Feedback (Heuser et al., 1994a; Holsboer, 2000; Pariante, 2004; Pariante und Lightman, 2008). Diese Resistenz geht auch mit einer Resistenz gegenüber der Suppression der Kortisolproduktion und -ausschüttung durch Dexamethason einher, das ebenfalls die negative Feedbackschleife daktiviert (Frodl und O'Keane, 2012).

Tierstudien zufolge wird besonders eine Dysfunktion des GR im Hypothalamus für die Beeinträchtigung des negativen Feedbacks verantwortlich gemacht (Claes, 2009). Eine Studie, die post mortem in humanen Gehirnen die GR Expression mittels insitu Hybridisation untersuchte, unterstützt die These einer veränderten GR-Verteilung und Funktionalität bei Patienten mit affektiver Störung (Webster et al., 2002). Auch die Effekte von Antidepressiva am GR und MR, die bei erfolgreicher Therapie zu einer erhöhten Expression und Funktion der Rezeptoren und in Konsequenz wieder zu einem erhöhtem negativem Feedback innerhalb der HPA-Achse und zur Normalisierung der Kortisolausschüttung führen, sprechen für die GR-Hypothese der Depression (Pariante, 2004).

Zusätzlich zu den neuroendokrinologischen Veränderungen gibt es auch zahlreiche Studien, die strukturelle Auffälligkeiten bei depressiven Patienten zeigten (Bora et al., 2012; Palazidou, 2012; Shah et al., 1998). Dabei fokussiert sich die hypothesengetriebene Forschung vor allem auf Areale, die Teil der kortikalen Regulation der HPA-Achse bzw. der generellen Stressantwort sind.

Es werden im Rahmen dieser Arbeit, die die Mechanismen an gesunden Probanden untersucht, nur exemplarisch einige Beispielstudien zu solchen Veränderungen aufgeführt. Diese sollen einen Einblick in krankheitsbedingt veränderte oder krankheitsauslösende Regulationsmechanismen geben, um den Nutzen solcher Studien an gesunden Probanden zu unterstreichen. Insbesondere soll hierbei dargestellt werden, dass die Untersuchungen struktureller und funktioneller Veränderungen des Gehirns an bereits erkrankten Patienten oft schwierig zu interpretierend Befunde erzeugt: es können beispielsweise Veränderungen der Regulationsmechanismen der Stressantwort dazu führen,

dass die Stressantwort unphysiologisch stark oder lang anhaltend ausfällt, und damit - bei Wiederholung oder Chronifizierung – zu weiteren Fehlfunktionen weiterer Netzwerke führen. Solche Störungen können weitreichenden Veränderungen von Stimmung, Antrieb und Motivationalität sowie Gedächtnisfunktionen beinhalten und sind dann oft nicht von primären Fehlfunktionen zu unterscheiden.

So gibt es beispielsweise Metaanalysen, die Volumensänderungen des Hippokampus, die im Schnitt 4-6% Volumensdefizite (links bzw. rechts) bei depressiven Patienten im Vergleich zu Kontrollprobanden bestätigen (Campbell et al., 2004; McKinnon et al., 2009; Videbech und Ravnkilde, 2004). Diese Veränderungen könnten dabei Langzeitfolgen einer chronisch erhöhten GC-Konzentration sein (sogenannte Neurotoxizitäts-Hypothese) (Sapolsky, 2000a; Sapolsky, 2000b). Andererseits könnte ein geringeres Hippokampusvolumen auch das Risiko einer Depression erhöhen, also ein primären Risikofaktor darstellen (Carballedo et al., 2012; Foland-Ross et al., 2012; Gilmer und McKinney, 2003).

Aber nicht nur der Hippokampus ist von funktionellen und strukturellen Veränderungen betroffen. Helen Mayberg entwickelte ein auf PET¹⁰-Befunden basierendes funktionell-neuroanatomisches Depressionsmodell (1997): Sie unterteilte das Modell grob in die drei funktionellen Areale (dorsal, ventral und rostral). Das dorsale Areal umfasst neokortikale und limbische Elemente, speziell den dorsalen ACC, Teile des inferioren parietalen Kortex sowie das Striatum. Diesem Areal werden die kognitiven Defizite der Krankheit zugeteilt. Das ventrale Areal umfasst paralimbische und subkortikale Bereiche sowie Regionen im Hirnstamm (unter anderem die HPA-Achse, Insula, sowie das subgenuale ACC). Dieses ventrale Areal ist an den vegetativen und somatischen Aspekten der Krankheit beteiligt. Das dritte Areal besteht aus dem rostralen ACC, das Verbindungen sowohl zum ventralen als auch dorsalen Areal hat (Mayberg, 1997).

Des Weiteren zeigten depressive Patienten einen ungünstigeren Krankheitsverlauf (höhere Rückfälligkeit und Chronifizierung) in Abhängigkeit vom Volumen des Hippokampus, der Amygdala, des ACC und des dorsomedialen PFC (Frodl et al., 2008a; Frodl et al., 2008b). Sehr ähnliche Regionen wurden später auch von Bennett zu einem „präfrontal-limbischen Netzwerk der Depression“ zusammengefasst (Bennett, 2011).

Mit der vermehrten Anwendung der funktionellen Bildgebung konnten zusätzlich zu strukturellen Anomalien auch funktionelle Veränderungen, auch der Ruhenetzwerkaktivität bei depressiven Patienten, aufgedeckt werden. Steele et al. (2007) analysierten hier im anatomischen Rahmen insgesamt 42 funktionelle Studien mit verschiedenen Paradigmen und berichteten, dass die deutlichsten Gruppenunterschiede im rostralen ACC (etwa Brodmann Area, BA32), dem

¹⁰ PET steht für Positronen-Emissions-Tomographie, ein bildgebendes Verfahren, dass physiologische Funktionen (z.B. den Glucoseverbrauch eines Organs), über Anreicherung radioaktiv markierte Substanzen (z.B. Fluor-2-Desoxy-D-Glukose), im Organismus sichtbar macht.

subgenualen ACC (etwas BA 25) und dem dorsolateralen PFC (etwa BA 9/46) gefunden werden konnten. Greicius et al. (2007) berichtete sehr früh über Veränderungen des subgenualen ACC innerhalb des Default Mode Netzwerkes (DMN) bei akuter Major Depression (MD), wobei das Ausmaß der Veränderung mit der Dauer der Episode korrelierte. Wang et al. (2012) veröffentlicht vor kurzem eine Übersichtsarbeit indem Ergebnisse von 16 fMRT-Studien zu Ruhenetzwerken in MD verglichen wurden. Es zeigte sich eine Übereinstimmung in den Befunden zu veränderten funktionellen Konnektivitäten in Ruhe, besonders in kortiko- limbischen Netzwerken die für die Stimmungsregulation verantwortlich sind sowie Änderungen des DMN (Wang et al., 2012).

1.2 Biomarker

Mit der steigenden Prävalenz für stressbedingte Erkrankungen, mitbedingt durch erhöhte Anforderung an das Stressregulationssystem durch sozioökonomische Umweltfaktoren, steigt auch das Interesse möglichst frühzeitig solche Personen zu identifizieren, die eine höhere Vulnerabilität und damit ein erhöhtes Risiko tragen, eine mit Stress assoziierte Krankheit zu entwickeln. Durch spezifische präventive Maßnahmen könnte der Krankheitsausbruch dann abgemildert oder im Idealfall ganz verhindert werden, womit die Lebensqualität der Betroffenen erhalten und der Gesellschaft erhebliche Kosten erspart bleiben würden. Es ist auch wünschenswert und für den Ansatz der sogenannten „personalisierten Therapie“ immer entscheidender, Testverfahren zur Verfügung zu haben, die möglichst frühzeitig vorhersagen, welcher Behandlungsansatz zu welchem Patienten passt. Für neuropsychiatrische Erkrankungen könnte die Erforschung der Stresskapazität eines Organismus anhand funktioneller MRT-Daten besonders interessant sein.

In einem 2009 erschienenen Artikel (Bracht, 2009) werden Biomarker als Eigenschaft bezeichnet, die objektiv gemessen und evaluiert werden können und die als Indikator für normale oder pathogene biologische Prozesse, oder für pharmakologische Reaktionen auf pharmazeutische Interventionen, dienen (Baum und Gruneberg, 1997). Dabei kann man Biomarker grob in krankheitsbezogene und arzneimittelbezogene Biomarker unterteilen (Schmidt, 2006). Bei den krankheitsbezogenen Biomarkern differenziert man weiter zwischen präventiven, diagnostischen und prädiktiven Markern (Mildvan et al., 1997). Klassische Biomarker mit biologischen Indikationen sind vor allem Blut oder Urinproben. In den letzten Jahren wurde die Suche nach anderen Biomarkern jedoch ausgeweitet (Piazza et al., 2010). Insbesondere für komplexe neurobiologische Prozesse sind bildgebende Verfahren in vielerlei Hinsicht attraktiv, wobei bezogen auf die Stresskapazität eines Organismus, vor allem präventive bzw. prädiktive Marker interessant sind.

Eine generelle Herausforderung bei der Suche nach neuen Biomarkern sind die hohen Anforderungen an die Methode. Dazu gehört, dass Biomarker allgemein gültig und anwendbar sein sollten. Ebenfalls sollten sie möglichst nicht invasiv,

aber gleichzeitig so (krankheits-)spezifisch wie möglich sein, sowie nicht allzu aufwändig und kostenintensiv in der Anwendung. Des Weiteren sollten sich die Ergebnisse zwischen Studien in verschiedenen Arbeitsgruppen und Orten nicht oder nur geringfügig unterscheiden. Auf der Suche nach dem Biomarker der Stresskapazität wäre es wünschenswert eine Aussage über die individuelle Kapazitätsgrenze möglichst zu einem Zeitpunkt machen zu können, an dem noch keine neuroendokrinen Änderungen vorliegen. Einen frühen Hinweis dafür im Gehirn, dem zentralen Kontrollorgan der Stressantwort, zu finden, scheint daher vielversprechend.

Die Methode der Wahl, um das Gehirn des lebenden Menschen zu untersuchen, ist dabei die funktionelle Bildgebung. Eine der Herausforderungen bleibt hierbei, dass es noch kein einheitliches Aufnahme- und Analyseverfahren bei der funktionalen Bildgebung gibt, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse auf der Suche nach einem Biomarker der Stresskapazität erschwert (Haller und Bartsch, 2009).

In den folgenden Kapiteln wird ein Analyseverfahren zur Untersuchung des Stresssystems bzw. vielmehr dessen kortikaler Kontrollnetzwerke und die Verknüpfung zu endokrinen Parametern dargestellt. Die funktionelle Bildgebung ist, verglichen mit klassischen Biomarkern in Blut- oder Urinproben, eine noch junge Methode, die auch relativ kostenintensiv ist. Der entscheidende Vorteil der funktionellen Bildgebung ist jedoch, dass es sich um eine nicht-invasive Methode handelt, die ohne Kontrastmittel und ohne Einnahme von radioaktiven Stoffen auskommt. Damit ist sie fast uneingeschränkt (siehe dazu im Methodenteil die aufgeführten Kontraindikationen) auch bei Kindern, älteren Personen und Patienten einsetzbar. Die Identifikation eines Biomarkers der Stresskapazität im Gehirn könnte dazu beitragen Personen mit einer niedrigeren Stresskapazitätsgrenze, also Hochrisikopersonen für stressassoziierte neuroendokrinologische oder psychiatrische Krankheiten, zu identifizieren.

Eine der Aufgaben einer solchen Grundlagenforschung ist es daher, die Mechanismen, die die Stresskapazität ausmachen bzw. diese beeinflussen zu verstehen. Wann für eine solche Markeridentifizierung die Charakterisierung der Ruheaktivität des Gehirns vielversprechend ist, wird im folgenden Kapitel erläutert.

1.3 Funktionelle Konnektivität und Ruhenetzwerke

In diesem Kapitel sollen die Vorteile funktioneller Konnektivitätsmessungen für die Identifizierung von „Stressbiomarkern“ im Gehirn dargestellt werden.

1.3.1 Definition von funktioneller Konnektivität

Als funktionelle Konnektivität bezeichnet man die zeitliche Ähnlichkeit neuronaler Aktivierungsmuster in anatomisch getrennten Gehirnregionen (Deco und Corbetta,

2011; Friston et al., 1993; Horwitz, 2003). Damit ist die funktionelle Konnektivität eine Analyse­methode, die unter anderem durch die Schätzung der zeitlichen Kohärenz zwischen Aktivierungsmustern, positive und negative funktionelle Interaktionen zwischen den einzelnen Gehirnregionen widerspiegelt (Fox et al., 2005). „Positiv“ bedeutet hierbei, dass eine hohe Aktivität der einen Region zeitgleich mit einer hohen Aktivität der anderen Region einhergeht, während „negativ“ ein eher gegenläufiger Verlauf der beiden Aktivitätsmuster bezeichnet.

Die Messung der funktionellen Konnektivität kann dabei auf fMRT-Daten angewandt werden, die während der Bearbeitung einer Aufgabe (Fox et al., 2007; Fox und Raichle, 2007), oder während Ruhemessungen aufgenommen werden (Auer, 2008), da auch während Ruhemessungen (spontane) Fluktuationen auftreten.

Das Prinzip der funktionellen Konnektivitätsberechnung beruht dabei auf der Korrelation von Zeitreihen der spontanen Fluktuationen bestimmter Gehirnregionen (Friston et al., 1993; Lee et al., 2003). Diese können untereinander, zum Beispiel paarweise verglichen werden, oder es kann eine Region mit allen anderen möglichen Hirnregionen verglichen werden. Beim letzteren Verfahren lassen sich Konnektivitätskarten, also Gehirnkarten mit Regionen die eine ähnliche spontane Fluktuation über die Zeit wie die Seedregion in Ruhe aufweisen, erstellen (Buckner und Vincent, 2007; De Luca et al., 2006). Verbände von Regionen, die spontan bereits eine hohe Verknüpfung ihrer zeitlichen Aktivitätsschwankungen zeigen, werden als sogenannte „Ruhenetzwerke“ bezeichnet (Margulies et al., 2010).

1.3.2 Definition Ruhenetzwerke

Ruhenetzwerke sind unter Verwendung funktioneller Konnektivitätsanalysen definierte Muster spontaner Fluktuationen im Gehirn, die bereits in Ruhenachweisbar sind (Deco und Corbetta, 2011; Margulies et al., 2010). Unter Ruhe-fMRT (engl. resting state fMRI, rs-fMRI) versteht man Messungen, bei denen die Probanden die Anweisung bekommen, sich während der fMRT-Aufnahmen zu entspannen und an „nichts besonders zu denken“ (van den Heuvel und Pol, 2010a). Die Messungen können sowohl mit geschlossenen Augen als auch mit offenen Augen und Fixation¹¹ durchgeführt werden (Marx et al., 2004). Idealerweise sollten die Probanden dabei nicht einschlafen, da bekannt ist, dass die Ausprägung der funktionellen Konnektivität vigilanzabhängig ist (Andrade et al., 2011; Horowitz et al., 2008; Sämann et al., 2011).

Biswal und Kollegen (1995) waren die ersten, die zeigen konnten, dass nicht nur während des Lösen einer motorischen Aufgabe, sondern auch während einer Ruhebedingung die BOLD-Zeitreihen des linken und rechten primären

¹¹ Fixation bedeutet hier das gezielte Betrachten eines einfachen visuellen Stimulus (oft ein Fixationskreuz) im Scanner.

motorischen Kortex eine hohe Korrelationen über die Zeit zeigten. Diese Korrelation der beiden Regionen auch in Ruhe vorzufinden, deutete auf einen generellen Informationsaustausch zwischen diesen Regionen und damit auf eine funktionelle Interaktion der Regionen in Ruhe hin (Biswal et al., 1997; Fox und Raichle, 2007; Greicius et al., 2003). Diese ersten Ergebnisse wurden in den folgenden Jahren vielfach repliziert und für andere Regionen im Gehirn, wie den visuellen oder auditorischen Kortex (De Luca et al., 2005; Xiong et al., 1999) sowie für höhere kognitive Netzwerke gezeigt (Auer, 2008; Damoiseaux et al., 2006; Fox et al., 2005; Fox und Raichle, 2007).

Bei spontanen Fluktuationen des BOLD-Signals im Gehirn sind vor allem niederfrequente Schwingungen zwischen 0,01 und 0,1 Hz dominant (Auer, 2008; Cordes et al., 2001). Die anhaltende Debatte, ob es sich bei diesen Fluktuationen nur um Signale physiologischer Prozesse wie Atmung und Herzschlagschwingungen oder um Korrelationen neuronalen Ursprungs handelt, sei hier nur kurz der Vollständigkeit halber erwähnt, mit dem Verweis auf einen kürzlich dazu erschienen Artikel (van den Heuvel und Pol, 2010a).

Die vorliegende Arbeit basiert auf der Annahme, dass es sich, bei geeigneter Analyse, bei den niederfrequenten Schwingungen um Abbildungen der spontanen neuronalen Aktivität handelt (Auer, 2008). Die funktionelle Konnektivität kann, mit Einschränkungen, auch in Zusammenhang mit anatomischer Konnektivität gesehen werden. Dies bedeutet, dass eine starke Faserverknüpfung zwischen zwei Hirnregionen bis zu einem gewissen Grad mit der funktionellen Korrespondenz korreliert (van den Heuvel et al., 2009a). In keinem Fall besteht jedoch eine vollständige Deckungsgleichheit zwischen diesen Messgrößen (Deco und Corbetta, 2011).

1.3.3 Wie werden funktionelle Konnektivität und Ruhenetzwerke berechnet?

Zur Identifizierung der Ruhenetzwerke durch eine funktionelle Konnektivitätsanalyse stehen verschiedene Analyseansätze zur Auswahl: Eine Grobunterteilung ist in modellabhängige und modellunabhängige Analysemethoden möglich (Margulies et al., 2010; van den Heuvel und Pol, 2010a).

Die Methode der Wahl bei den modellabhängigen Analysen ist die sogenannte seedbasierte Konnektivitätsanalyse (Fox und Raichle, 2007; Margulies et al., 2007). Die einfachste Methode dabei ist, die BOLD-Zeitreihe der Seedregion zu extrahieren und die zeitliche Korrelation zwischen jener extrahierten Zeitreihe und allen anderen BOLD-Zeitreihen im Gehirn zu bestimmen (Fox und Raichle, 2007). Das resultierende Ergebnis ist eine Konnektivitätskarte, die die funktionelle Interaktionen der zuvor ausgesuchten Regionen über die Zeit widerspiegelt (van den Heuvel und Pol, 2010a).

Diese Konnektivitätskarte beinhaltet zunächst noch Korrelationswerte, die auf ihre statistische Signifikanz geprüft werden müssen. Die Nullhypothese ist hierbei, dass keine Konnektivität zwischen der Seedregion und dem Zielvoxel besteht. Der

Vorteil dieser Methode liegt in der klaren Struktur, einer guten Sensitivität bei gleichzeitiger relativ unkomplizierten Anwendung (Fox und Raichle, 2007) und Ergebnisinterpretation, da die Konnektivitätskarten die funktionellen Interaktionen der Seedregion direkt zeigen (Fox et al., 2005; Greicius et al., 2003). Der Nachteil der Konnektivitätskarte liegt zum einen in der notwendigen Vorabselektion der Seedregionen und die damit verbundenen Einschränkungen der Analyse. Es ist damit auch nicht möglich, eine Aktivitätsverteilung über das gesamte Gehirn zu erzeugen (van den Heuvel und Pol, 2010a). Eine weitere Einschränkung ergibt sich für die gleichzeitige Untersuchung mehrerer Netzwerke und deren Interaktionen (Fox und Raichle, 2007).

Um die Nachteile der Vorabselektion einer einzelnen Seedregion zu umgehen, kann die Methode des hierarchischen Clusterings (Cordes et al., 2002; Salvador et al., 2005) verwendet werden. Diese Methode erfordert zwar immer noch eine Vorabselektion von Seeds, allerdings ist es möglich, die Zeitreihen von vielen Seedregionen gleichzeitig zu extrahieren und daraus eine Korrelationsmatrix zu erstellen. Mithilfe eines speziellen Clustering-Algorithmus können daraus dann jene Regionen bestimmt werden, die am stärksten bzw. schwächsten verknüpft sind (Fox und Raichle, 2007). Dazu werden Datenpunkte in Subgruppen unterteilt, die eine ähnlich Zeitreihe bzw. besonders unterschiedliche Zeitreihen aufweisen (van den Heuvel et al., 2008; van den Heuvel und Pol, 2010a).

Die bekannteste und bisher meist genutzte modellunabhängige Analyse ist die unabhängige Komponentenanalyse (ICA engl. independent component analysis) (Beckmann et al., 2005; Damoiseaux et al., 2006). Dabei wird ein kompletter BOLD-Datensatz analysiert, indem er in die größtmögliche Anzahl an statistisch maximal unabhängigen Signalkomponenten unterteilt wird (Fox und Raichle, 2007). Damoiseaux et al. (2006) gelang es unter Verwendung des ICA Ansatzes, zehn verschiedene konsistente Netzwerke in gesunden Probanden zu identifizieren, die von spontanen Fluktuationen getrieben werden. Der Vorteil dieser Methode ist, dass einige Komponenten Störsignale repräsentieren und andere tatsächliche neuronale Aktivität, was eine Vorverarbeitung der Daten bzgl. Störsignaleliminierung bei dieser Analysemethode überflüssig macht. Hingegen ergeben sich für die Selektion und Interpretation der Ergebnisse Schwierigkeiten (Fox und Raichle, 2007). Zum einen liegt es am Experimentator zu entscheiden, welche Komponenten Störsignale sind und welche neuro-anatomische Strukturen widerspiegeln, was eine Vorabfestlegung von Auswahlkriterien zur Verallgemeinerung von Ergebnissen erfordert. Zum anderen werden die sich ergebenden Konnektivitätskarten durch die Anzahl der Komponenten, die durch den Experimentator festgelegt werden können, beeinflusst (bou-Elseoud et al., 2010). Obwohl man mit der Verwendung einer ICA einige der Schwierigkeiten der modellabhängigen Analyse umgehen kann, ergeben sich aus den genannten Festlegungen mögliche anderweitige Subjektivitätsverzerrungen durch den Experimentator (Margulies et al., 2010).

Um eine generelle Konnektivitätskarte über das gesamte Gehirn zu erstellen, wurde kürzlich die Methode der funktionellen Konnektivitätsdichtemessung (FCDM), ein voxelweiser, datengetriebener Ansatz entwickelt (Tomasi und Volkow, 2010a). Mit diesem Verfahren kann, in zur Berechnungsmenge gesehen relativ kurzer Zeit, eine Verteilungskarte erstellt werden, in denen Regionen im Gehirn anhand der Dichte ihrer funktionellen Interaktionen, die sie über das gesamte Gehirn verteilt unterhalten, charakterisiert werden. Jene Regionen die eine hohe Dichte haben, sind am stärksten im Gehirn vernetzt.

Unter Verwendung der FCDM konnten Tomasi et al. (2012) zeigen, dass es einen geschlechtsspezifisch Unterschied in der Verteilung von stark und schwach vernetzten Regionen gibt. Dies könnte zum Beispiel für unterschiedliche geschlechtsspezifische Lösungsansätze von kognitiven Aufgaben relevant sein, oder sich in verschiedenen Verhaltensweisen bei der Stressbewältigung auswirken (Kirschbaum et al., 1992b; Kudielka et al., 2009; Wang et al., 2007). Das Muster der Konnektivitätsdichte könnte des Weiteren die Vulnerabilität eines Menschen für neuropsychiatrische Erkrankungen beeinflussen bzw. einen Hinweis für die Anfälligkeit enthalten (Tomasi und Volkow, 2012).

Unabhängig von der Art der speziellen Analyseverfahren, die jeweils verwendet wird, können über solche Konnektivitätsanalysen funktionelle Interaktionen und Interaktionssysteme im Gehirn (in Ruhe) identifiziert und untersucht werden, was die Methode zu einem neuartigen Ansatz in der Gehirnforschung macht.

1.3.4 Was sagen Ruhenetzwerke über das Gehirn aus?

Ein konsistenter Befund von Ruhenetzwerkstudien ist, dass Gehirnregionen die eine ähnliche Funktionalität haben, d. h. Regionen die bei der Bearbeitung von Aufgaben gemeinsam aktiviert werden, dazu neigen, auch in ihrer spontanen Aktivität in Ruhe zu korrelieren (Fox and Raichle 2007). Der Ursprung bzw. physiologische Hintergrund dieser Tatsache ist noch nicht abschließend geklärt. Eine wichtige Erkenntnis hierzu aber ist, dass die Ruheaktivität eine Aufgaben-induzierte Aktivität vorhersagen kann. Auf funktioneller Ebene bedeutet dies, dass die Reaktion auf einen Stimulus, während einer Aufgabe gewissermaßen begünstigt werden kann, wenn die Ruheaktivität, in der für die Aufgabe geforderten Region, kurz vor dem Stimulus, bereits hoch war (Boly et al., 2007; Sadaghiani et al., 2009). Ein weiterer Hinweis für die hohe funktionelle Bedeutung der Ruhenetzwerke ergibt sich aus Studien, die zeigen konnten, dass bestimmte neurodegenerative Erkrankungen mit Defekte in bestimmten Ruhenetzwerken verbunden sind (zum Beispiel wurde ein verändertes Default Mode Network bei Demenzkranken gefunden (Rombouts und Scheltens, 2005).

Aber wieso interagieren Gehirnregionen, die anatomisch verbunden sind (oder auch nicht), in Ruhe auch wenn es scheinbar keine aktuelle Aufgabe zu lösen gibt? Da Aktivität im Sinne der Interaktion und Kommunikation im Gehirn viel

Energie kostet (Attwell und Laughlin, 2001), ist davon auszugehen, dass die Ruhenetzwerke einem biologischen Zweck erfüllen.

Deco und Corbetta (2011) diskutieren dazu drei mögliche Hypothesen: Die erste geht davon aus, dass Ruhenetzwerke physiologische Marker von anatomischen Verbindungen sein könnten. Die Struktur und Stärke der Vernetzung innerhalb der Ruhenetzwerke wäre dann als eine Konsequenz der wiederholten Netzwerkaktivierung ähnlich dem „Fire-Wire-Prinzip“¹² anzusehen, wonach Zellen bzw. Regionen, die öfter miteinander interagieren, also ähnlich spontane Fluktuationen zeigen, stärker (anatomisch) miteinander verknüpft werden. Diese Hypothese wird durch Befunde gestützt, die eine signifikante Korrelation der Stärke der Ruhenetzwerke und kognitiven Fähigkeiten (Hampson et al., 2006), neurologischen Defiziten (He et al., 2007) oder kürzlich erworbenen Kompetenzen (Lewisa et al., 2009) belegen.

Die zweite von Deco & Corbetta (2011) genannte Möglichkeit wäre, dass die Ruhenetzwerke eine räumliche und zeitliche Netzwerkgemeinschaft bilden, die eine weitreichende und effiziente Kommunikation im Gehirn ermöglicht. Diese Hypothese wird durch den Befund gestützt, dass es eine positive Korrelation zwischen Ruhenetzwerken oder deren elektrophysiologischen Korrelaten und den Verhaltensweisen zum Beispiel beim Lösen einer motorischen Onlineaufgabe (Fox et al., 2007) oder auch von höheren kognitiven Aufgaben gibt (Duan et al., 2012; Stevens et al., 2012). Allem Anschein nach ist der Grad der Organisation eines Netzwerks proportional zu dessen Effektivität, da gezeigt wurde, dass die Art der Netzwerkstruktur, die Fähigkeit Informationen zu integrieren definiert (van den Heuvel und Pol, 2010b).

Die dritte Möglichkeit, die sich von den anderen beiden grundlegend unterscheidet, hypothetisiert, dass Ruhenetzwerke zukünftige Handlungen bzw. Handlungsmöglichkeiten kodieren. Diese Hypothese unterscheidet sich insofern von den anderen beiden, indem Ruhenetzwerke hier nicht nur als Kommunikationsplattformen zwischen zum Teil anatomisch weit entfernten Gehirnregionen dienen, sondern zu einem individuellen Charakteristikum werden. Ruhenetzwerke könnten zum Beispiel Erfahrungen und Kapazitäten oder den körperlichen und kognitiven Status des Organismus widerspiegeln (Deco und Corbetta, 2011).

Es wurde auch gezeigt, dass die Struktur der Ruhenetzwerke als Prädiktor für die „Intelligenz“ eines Menschen verwendet werden kann (van den Heuvel et al., 2009b). Diese Interpretationsidee wird durch Studienergebnisse unterstützt, die zeigen, dass ein Teil der Ruhenetzwerke bei diversen neuropsychiatrischen Krankheiten, insbesondere während einer akuten Krankheitsphase (Greicius, 2008; van den Heuvel und Pol, 2010a) aber auch in Personen die ein erhöhtes

¹² Bezieht sich auf die Feststellung von Hebb (1994) dass Zellen die zusammen feuern sich auch miteinander verbinden bzw. sich beide Zellen dabei verändern. Auf Netzwerke übertragen könnte es bedeuten das die Regionen die unter Anforderung interagieren, also deren Neurone zusammen feuern müssen sich auf Dauer untereinander durch anatomische Sturkuren vernetzen.

Risiko für die Entwicklung einer solchen Krankheit haben (engl. high-risk person, kurz HRP) verändert sind (Carballedo et al., 2012; Liu et al., 2010; Meda et al., 2012).

Dazu kommt, dass es Fransson et al. (2007; 2009) gelang, schon bei Neugeborenen Ruhenetzwerke zu identifizieren. Hierbei scheinen sich in der frühen kindlichen Entwicklung jedoch noch Veränderungen der Ruhenetzwerke abzuspielen, da sich erst später in der Entwicklung das Muster von Erwachsenen zeigt. Bei Neugeborenen scheinen vor allem Bereiche im Gehirn in Ruhe zu interagieren, die für Wahrnehmungslernen und Bewusstseinsprozesse entscheidend sind (Fransson et al., 2009).

Falls die spontane Gehirnaktivität in Ruhe individuelle Hinweise für die persönliche Fähigkeit, Aufgaben zu Lösen, die Intelligenz oder teilweise die Ausprägungen der Persönlichkeit beinhaltet, könnte dies zukünftig auf der Suche nach Biomarkern für stressbedingte Erkrankungen genutzt werden. Vor allem die Suche nach „Ruhenetzwerke der Stressregulation“ ist hierbei entscheidend. Eine denkbare Aufgabe der Ruhenetzwerke der Stressregulation wäre, alle für die Erkennung und Bewältigung von Stress relevanten Gehirnregionen in Bereitschaft zu halten (Ulrich-Lai und Herman, 2009). Eine weitere interessante Eigenschaft von Ruhenetzwerken könnte sein, dass sich ihre Konfiguration oder Effizienz durch Training beeinflussen lässt (Duan et al., 2012). Dies würde, gegeben dass die Stress-regulierenden Netzwerke bekannt sind, theoretisch ermöglichen, Stressbewältigungstraining oder anderen psychotherapeutischen Interventionen durch Ruhenetzwerk messbar zu machen.

Als Fazit lässt sich zusammenfassen, dass es sich bei den funktionellen Ruhenetzwerken des menschlichen Gehirns um hoch organisierte Funktionseinheiten handelt, die eine lokale Informationsverarbeitung bei gleichzeitig effizienter globalen Informationsintegration ermöglichen (van den Heuvel und Pol, 2010b).

Das nächste Kapitel gibt einen Überblick über Studien die auf einer Kombination von Ruhenetzwerkanalysen und die Messung endokrinologischer Parameter beruhen, um die kortikale Stressregulation und die Unterschiede der Stressverarbeitung im Menschen zu untersuchen. Dabei sollen auch die Wissenslücken in diesem Bereich aufgezeigt werden.

1.3.5 Stand der Literatur der Stressforschung durch die Kombination von fMRT mit endokrinologischen Parametern

fMRT bietet einige Möglichkeiten, um die funktionellen Netzwerke, die spezifisch für die individuelle Stresserfahrung der Individuen sind, sichtbar zu machen und zu untersuchen (Dedovic et al., 2009b). Grundsätzlich können drei unterschiedliche Studienansätze unterschieden werden, um die kortikale Regulation der Stressregulation mittels fMRT zu untersuchen: 1) Es können psychosoziale Stresstests im Scanner vor, nach oder während fMRT-Messungen durchgeführt

werden, um die Reaktion des Gehirns während des Stressors zu untersuchen. Gleichzeitig können parallel zu den fMRT-Messungen Stresshormone oder andere somatische Stressparameter gemessen und mit den fMRT-Daten korreliert werden. 2) Durch pharmakologische Intervention oder Gabe von Stresshormonen kann experimentell in das Stressregulationssystem eingegriffen werden. 3) Ruhe-fMRT-Messungen sowie theoretisch auch fMRT mit Aufgaben, könne herangezogen werden, um stress-endokrinologische Parameter vorherzusagen.

Es hat sich gezeigt, dass vor allem Aufgaben mit sozialer Bewertung verlässlich eine akute Stressreaktion auslösen (Dedovic et al., 2009b; Kern et al., 2008; Pruessner et al., 2008). Es gibt derzeit zwei etablierte Stress-Paradigmen, die sich auch innerhalb des MRT anwenden lassen: Zum einen das sogenannte serielle Subtraktionparadigma, bei dem im Scanner unter Beobachtung und verbaler Bewertung in dreizehner Schritten von einer vierstelligen Zahl unter Zeitdruck im Kopf rückwärts gerechnet werden muss. Die Probanden werden dabei verbal unter Druck gesetzt und müssen bei jedem Rechenfehler wieder von vorne beginnen (Wang et al., 2005). Zum anderen wurde der Montreal Imaging Stress Test (MIST) vorgestellt (Dedovic et al., 2005). Bei diesem Test müssen unter Zeitdruck Rechenaufgaben gelöst werden, wobei der Schwierigkeitsgrad der Aufgaben an die Fähigkeit der Probanden anpasst wird. Der psychosoziale Stress wird durch negative Kommentare seitens der Experimentatoren, die die Probanden unter Leistungsdruck setzen, erzeugt. Der Druck wird zusätzlich erhöht, indem den Probanden ständig ein Vergleich ihrer eigenen Leistung mit der manipulierten Leistung einer Referenzgruppe vorgehalten wird (Dedovic et al., 2005; Dedovic et al., 2009c; Pruessner et al., 2008).

In einer kombinierten PET/fMRT-Studie fand Dedovic (2005) unter Verwendung des MIST, eine Abnahme des Glukoseverbrauchs und des BOLD-Signals im mPFC, Hypothalamus und Hippokampus während der Stressphasen. Dabei sagte der Grad der Abnahme der physiologischen Signale im Gehirn die Stärke der Kortisolantwort während des Stresstests vorher (Pruessner et al., 2008). Daraus schloss die Gruppe, dass das Lösen der tonischen Suppression der HPA-Achse durch limbische Strukturen essentiell für die akute Stressantwort sein muss (Pruessner et al., 2008). Auch Thomason et al. (2011) fand mittels eines Stresstest bei Jugendlichen einen Zusammenhang zwischen der Kortisolantwort während des Tests und der sofort nach dem Test aufgenommenen funktionellen Interaktion zwischen subgenualen ACC und dem salience Network¹³. Dabei zeigten jene Probanden mit einer stärkeren funktionellen Interaktion eine höhere Kortisolausschüttung.

Der subgenuale ACC wurde zuvor schon in direkten Zusammenhang mit der HPA-Achsen Aktivität in Rhesusaffen gebracht (Jahn et al., 2010). Die Beschrei-

¹³ Salience Network beschreibt das funktionelle Netzwerk bestehend aus ACC und bilateralen Insula anteriori (Thomason et al., 2011). Diese Regionen sind entscheidend beteiligt in der interozeptiven und emotionellen Aufmerksamkeit.

bung eines Zusammenhangs zwischen eines subgenualen Funktionsparameter in Ruhe und einer Stresshormonmessung ist wegen der zahlreichen Befunde zu subgenualen Veränderungen bei stressbedingten Erkrankungen besonders interessant (Bora et al., 2012; Drevets et al., 1997; Greicius et al., 2007).

Die Schwierigkeit, unter Verwendung eines Stresstest die kortikalen Kontrollmechanismen der HPA-Achse zu untersuchen, liegt darin, dass die HPA-Achse durch den Test verlässlich aktiviert werden muss und gleichzeitig möglichst keine sonstigen Emotionen hervorgerufen werden sollten (Dedovic et al., 2009b). Diese Schwierigkeit entfällt bei Studien, die Ruhemessungen im fMRT mit endogenen Stressparametern wie die Bestimmung des Kortisolgehalts im Speichel oder Blut verwenden, um die kortikalen Regulationsmechanismen zu erforschen. Dabei wurde beispielsweise ein Zusammenhang zwischen der Amplitudengröße der zirkadianen Kortisolausschüttung und der Aktivierungsstärke in limbischen Regionen, unter anderem der Amygdala, dem Hippokampus und dem Hypothalamus gefunden (Cunningham-Bussel et al., 2009). Menschen mit einer größeren Amplitude zeigten eine geringere Aktivierung dieser Regionen auf emotional negative visuelle Stimuli, was durch eine erhöhte regulierende Einflussnahme durch den mPFC verursacht sein könnte (Cunningham-Bussel et al., 2009). Veer et al. (2011b) berichtete vor kurzem ebenfalls einen funktionellen Zusammenhang zwischen dem endogenen Muster der Kortisolausschüttung und dem mPFC. Er konnte im Rahmen einer größeren Studie zeigen, dass Probanden, die nach dem natürlichen Morgenpeak der Kortisolkonzentration im Blut (siehe Abbildung 2 für einen beispielhaft skizzierten Verlauf des zirkadianen Kortisolrhythmus) einen steileren Abfall des Kortisolgehalts hatten, eine schwächere funktionelle Interaktion zwischen Amygdala und mPFC in Ruhemessungen zeigten. Der zirkadiane Rhythmus der Kortisolausschüttung wird dabei als Marker für die Integrität der HPA-Achse angesehen, wie auch schon in anderen Studien postuliert wurde (Clow et al., 2010; Wust et al., 2000). Folglich sind Regionen, die mit der endogenen Kortisolausschüttung in Zusammenhang gebracht werden, sehr wahrscheinlich Bestandteile der kortikalen Kontrollnetzwerke der HPA-Achse.

Unser Wissen über die generellen Effekte von GCs im zentralen Nervensystem ist trotz dieser Studien immer noch sehr begrenzt und stammt hauptsächlich aus in-vitro Studien und Tiermodellen (z. B. (de Kloet, 1984; Ferris und Stolberg, 2010)). Es waren auch Tierstudien, die die Erkenntnis brachten, dass extern gegebenes Kortisol schnell über die Bluthirnschranke ins Gehirn gelangt (Ferris und Stolberg, 2010; Schwartz et al., 1972; Venero und Borrell, 1999). Seit kurzem werden daher fMRT-Studien herangezogen, um den Effekt von exogen appliziertem Kortisol auf das humane Gehirn zu untersuchen (Henckens et al., 2010; Henckens et al., 2012; Lovallo et al., 2010; Strelzyk et al., 2012; Symonds et al., 2012). Dabei können grob zwei Studienansätze unterschieden werden:

Zum einen kann die orale oder auch akute i. v. Applikation von Kortisol auf kognitive Fähigkeiten mittels spezieller Testaufgaben untersucht werden; zum anderen kann der Effekt der Kortisolgabe auf die Ruhe-fMRT analysiert werden. Bisher wurden vor allem emotionale Stimuli oder Gedächtnisaufgaben unter verschiedenen Kortisolbedingungen untersucht, da hierdurch beeinflusste Regionen (vor allem Amygdala und Hippokampus) bekanntermaßen in die Stressregulation involviert sind.

Eine Studie mit emotionalen Stimuli wurde von Henckens et al. (2010), mit besonderem Interesse für die Amygdalakonnektivität, durchgeführt. Dabei zeigte eine orale Gabe von Kortisol eine zeit- und stimulusabhängige Beeinflussung der Amygdalaaktivität. Ein früher Effekt der Einnahme (nach 75 Minuten) war eine generelle Desensibilisierung der Amygdala gegenüber den emotionalen visuellen Stimuli. Nach längerer Wirkzeit des externen zugeführten Kortisols (nach 4,5 Stunden) war die Reaktionsfähigkeit der Amygdala auf furchteinflößende visuelle Reize wieder hergestellt, wohingegen die Reaktionsfähigkeit auf fröhliche Reize weiterhin unterdrückt war (Henckens et al., 2010; Henckens et al., 2012). Diese emotionsspezifische Wiederherstellung der Reaktionsfähigkeit der Amygdala war mit einer veränderten Konnektivität zwischen Amygdala und mPFC verknüpft (Henckens et al., 2010). Die Autoren schlussfolgerten, dass Kortisol eine wichtige Rolle in der Inhibition des Stressregelkreislafs der Amygdala haben könnte. Dieser Regelkreislauf besteht daraus, dass normalerweise die Sensibilität der Amygdala bei Stress ansteigt, was zu einer erhöhten Aufmerksamkeit und Ängstlichkeit des Organismus führt, wodurch die Stressreaktion im Organismus angetrieben wird. Dieser sich selbst verstärkende Regelkreislauf könnte durch GCs dann wieder unterbrochen werden, was auch schon vor mehreren Jahren im Tiermodell gezeigt wurde (Dallman, 1993).

Dieselbe Gruppe untersuchte auch den Effekt einer oralen Kortisolgabe auf die Amygdalakonnektivität in Ruhe und fand ebenfalls eine reduzierte Konnektivität der Amygdala unter Kortisol im Vergleich zu Placebo (Henckens et al., 2012). Dabei verringerte sich sowohl die Konnektivität zu Regionen, die bei der Initiierung und Aufrechterhaltung der Stressreaktion entscheidend sind (wie u. a. der Hippokampus und der Hypothalamus), als auch die Konnektivität zu Regionen, die bei der exekutiven Kontrolle (Bereiche des Gyrus frontomedialis und temporalis) beteiligt sind (Henckens et al., 2012).

Unter Verwendung einer Arbeitsgedächtnis fordernden Aufgabe untersuchten Symonds et al. (2012) den Effekt von 100 mg intravenöser Kortisol Gabe auf die Hippokampusfunktion in gesunden Probanden. Dabei wurde eine Erhöhung des hippokampalen BOLD-Signals unter Kortisol im Vergleich zu Placebo gefunden. Zusätzlich reduzierte die Kortisolintervention die Aktivität des ventrolateralen PFC, der ein Teil des Arbeitsgedächtnisnetzwerkes ist. Die unter Placebobedingung beobachtete BOLD-Signal Abnahme im linken Hippokampus war dagegen unter Kortisoleinfluss aufgehoben, wobei kein Effekt der Kortisolgabe auf die Leistung

des Arbeitsgedächtnisses beobachtet werden konnte (Symonds et al., 2012). Es bleibt anzunehmen, dass die hohe Menge an Kortisol, die Symonds et al. verwendete, die natürlichen Konzentrationsspitzen im Tagesrhythmus der Kortisolausschüttung übertraf.

Die erste Studie, die die Effekte einer akuten i. v.-Gabe Hydrocortison (10 mg) auf die Ruhenetzwerke des Gehirns untersuchte, fand eine Reduzierung des BOLD-Signals im Hippokampus und der Amygdala, aber nicht im Thalamus, 30 bis 35 Minuten nach der Kortisolinjektion (Lovallo et al., 2010). Die Ergebnisse waren jedoch statistisch nicht streng geprüft, da bereits Abweichungen um eine Standardabweichung als signifikant erachtet wurden. Anfang dieses Jahres wurde die zweite Studie zu akuten nicht-genomischen Effekten von Kortisol in gesunden Probanden publiziert. Hier wurde eine geringere Menge an exogenem Kortisol injiziert (4 mg) und der Effekt sowohl auf den regionalen zerebralen Blutfluss als auch auf die elektrische Aktivität (spontane Oszillationen) im Gehirn untersucht. Dabei zeigten sich als Auswirkung des Kortisols - das in einer Menge gegeben wurde, die auch unter physiologischen Umständen bei Stress ausgeschüttet wird (Strelzyk et al., 2012) - innerhalb von 15 Minuten eine reduzierte Perfusion im Thalamus und teils auch im Nucleus caudatus (Strelzyk et al., 2012). Die Studie war die erste, die GC-Effekte auf den Thalamus in gesunden Probanden beobachteten.

Die Auswirkungen von Kortisol auf die spontanen EEG-Oszillationen waren dagegen nicht regional differenzierbar sondern offensichtlich global vorhanden (Strelzyk et al., 2012). Der biologische Sinn dahinter könnte, nach Ansicht der Autoren sein, dass Kortisol die kortikalen Verarbeitungsprozesse, die während einer Stresssituation hoch aktiv sind, hemmt, um das Gehirn vor einem „Informations-Overload“ zu schützen und eine kontrollierte Anpassung des Stresssystems zu ermöglichen (Strelzyk et al., 2012).

Um den State of Art Abschnitt abzuschließen, wird festgehalten, dass die Anzahl der Studien, die fMRT und neuroendokrinologische Parameter verknüpfen, noch sehr überschaubar sind. Gemeinsam ist den bisherigen Studien grundsätzlich, dass es einen mit der Methode der MRT messbaren Zusammenhang zwischen kortikalen Netzwerken im Gehirn und Parametern der HPA-Achse gibt.

Die vorliegende Arbeit hebt sich von den bisherigen Studien dahingehend ab, dass 1. die Wirkung einer Placebo-kontrollierte Kortisolinjektion durch eine Kombination aus EEG/fMRT-Messung erforscht wird 2. die Ruhenetzwerkaktivität des Gehirns mit dem bisher sensitivsten Marker für die Integrität der HPA-Achse, dem Dex/CRH-Test, verknüpft wird und 3. der Effekt einer durch Dexamethason provozierten Kortisolsuppression auf die Ruhenetzwerkaktivität gesunder Probanden gegen die exogene Gabe von Kortisol verglichen wird.

1.4 Fragestellung

Der aktuelle Stand der bisherigen Forschungsergebnisse deutet darauf hin, dass es einen mit der Methode der MRT messbaren Zusammenhang zwischen den kortikalen Netzwerken im Gehirn und der neuroendokrinen Stressregulationsachse, der HPA-Achse, gibt.

Wichtig für die kortikalen Netzwerke, die die Funktion der HPA-Achse modulieren, sind insbesondere Kerne der Amygdala, Teile des Hippokampus und des Hypothalamus, sowie Bereiche des präfrontalen Kortex. Diese Regionen üben zum einen Einfluss auf die Freisetzung des CRH im Hypothalamus aus, zum anderen werden sie durch Kortisol rekursiv in ihrer Funktion beeinflusst. Diese beiden Aspekte wurden daher im Rahmen dieser Arbeit in zwei separaten Analysen untersucht:

1. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit soll als erste Fragestellung untersucht werden, ob die Aktivität der Ruhenetzwerke des Gehirns das Ergebnis des Dex/CRH-Tests als sensitiver endokriner „Stresstest“ vorhersagen kann.
2. Weiterhin soll in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, ob sich die Aktivität der Ruhenetzwerke durch eine experimentelle Modulation des Kortisolspiegels signifikant ändert, wobei sowohl die Effekte einer intravenösen Applikation von Kortisol im Vergleich zu Placebo, als auch der Effekt einer durch Dexamethason herbeigeführten Suppression von Kortisol untersucht werden.

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

In diesem Abschnitt werden der generelle Aufbau der Studie, die Ein- und Ausschlusskriterien der Studienteilnehmer, sowie die Experimente der einzelnen Messtage beschrieben.

2.1.1 Studienteilnehmer

Die Studienpopulation bestand aus 20 männlichen, gesunden Probanden im Alter von 21 bis 31 Jahren (Durchschnittsalter 27 ± 2.6 Jahre), die über den internen Emailverteiler des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie und über Aushänge an verschiedenen Fakultäten der beiden Münchner Universitäten (Ludwig-Maximilians-Universität und Technische Universität), rekrutiert wurden.

Da sich Rechts- von Linkshändern funktionell unterscheiden, wurden nur Rechtshänder eingeschlossen. Weitere Einschlusskriterien waren eine derzeitige vollständige Gesundheit ohne eine akute oder in der Vergangenheit aufgetretene neurologische oder psychiatrische Erkrankung sowie der Ausschluss einer Kontraindikation gegen Magnetresonanztomographie¹⁴. Des Weiteren musste nach vollständiger Aufklärung über die Studie eine Einverständniserklärung über die freiwillige Teilnahme an dieser sowie eine Erklärung zum Datenschutz unterzeichnet werden. Beide Dokumente, wie auch die gesamte Studie, wurden durch die Ethikkommission der LMU München vorab genehmigt. Zusätzlich war das Einverständnis des Probanden mit der Übermittlung von möglichen Zufallsbefunden an den Hausarzt Bedingung. Es konnten außerdem nur Probanden an der Studie teilnehmen, die sich bereit erklärten, an den Messtagen keinerlei koffeinhaltigen Getränke zu sich zu nehmen sowie auf besonders fetthaltige Nahrung an den Messtagen zu verzichten.

Spezielle Ausschlusskriterien waren das Vorliegen von akuten oder chronischen Erkrankungen aus dem internistischen Bereich, insbesondere Asthma, Herz-Kreislauf-, Lungen-, Nieren- oder Lebererkrankungen sowie endokrinologische oder hämatologische Erkrankungen, aktuelle oder vergangene neurologische oder psychiatrische Erkrankungen, insbesondere depressive Störungen, oder Angststörungen. Ebenfalls zum Studienausschluss führten aktueller oder anamnestisch erfasster Substanzmissbrauch einschließlich Alkohol-, Schmerzmittel- oder Benzodiazepinabusus, ein regelmäßiger Zigarettenkonsum, sowie ein übermäßiger Koffeinkonsum. Weitere Ausschlusskriterien waren das Vorhandensein einer Kontraindikation gegen eine Magnetresonanztomographie¹,

¹⁴ Metallimplantate, Herzschrittmacher, Insulinpumpe, Cochleaimplantat, Klaustrophobie, Metallsplittverletzungen, Tätigkeit in der metallverarbeitenden Industrie, Zahnsperre

Klaustrophobie (Platzangst), Trypanophobie (Angst vor Injektionen), Schicht- oder Nachtarbeit, sowie Flüge über mehrere Zeitzonen in den Wochen vor der Messung.

2.1.2 Studiendesign und Studienablauf

Bei der durchgeführten Studie handelt es sich um ein Placebo-kontrolliertes, pharmakologisches fMRT-Experiment mit Cross-Over-Design, also einer zweimaligen Messung des gleichen Probanden mit randomisierter Zuteilung der Injektionsreihenfolge (Verum-Placebo oder Placebo-Verum). Die Placebo-Bedingung an der identischen Probandengruppe diente als Kontrollbedingung. Zusätzlich dazu wurden ein endokrinologischer Test (Dex/CRH-Test), sowie eine zusätzliche endokrinologische Kontrollmessung außerhalb des MRT aufgenommen.

Die Studie setzte sich somit aus insgesamt drei Hauptmessterminen für alle Probanden (siehe Abbildung 4A und 4B; Voruntersuchung nicht dargestellt: In Abbildung 4A sind Messtag 1 und 3 zusammen dargestellt, da sich die Messungen nur durch die verabreichte Substanz unterschieden) und einem zusätzlichen vierten Messtag (siehe Abbildung 4C) für drei zufällig aus dem Probandenpool gewählte Personen zusammen. Der Ablauf der einzelnen Messtage wird in den folgenden Absätzen beschrieben.

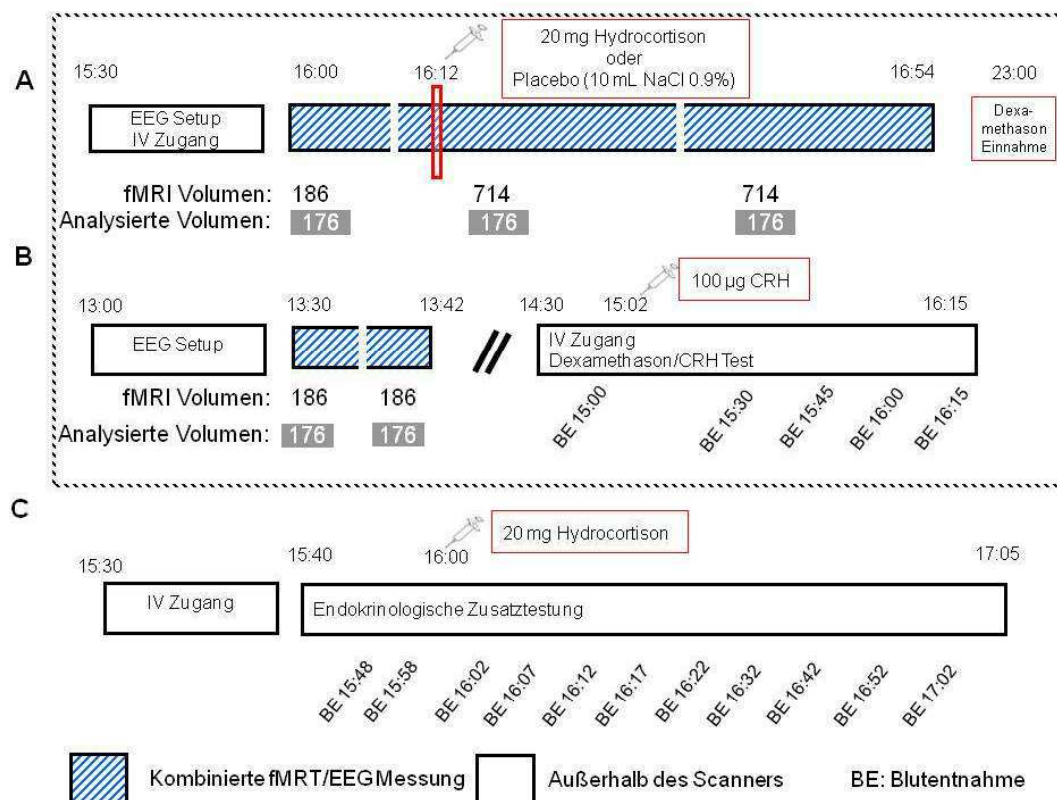


Abbildung 4: Studiendesign. **A:** Schematische Darstellung des ersten und dritten Messtermins. Nach EEG-Kappen-Montage und Anlage eines intravenösen Verweilkatheters wurde ein kurzer Ruhe-fMRT-Datensatz aufgenommen (6,12 min). Anschließend wurden hintereinander zwei 24 min lange Datensätze aufgenommen. Die Unterteilung der Datenaufnahmen beruht auf der technischen Limitation des Scanners, der eine maximale Aufnahme von 800 Bildern auf einmal erlaubt. **B:** Schematische Darstellung des zweiten Messtermins mit Dex/CRH-Test. Die Messung B erfolgte in durch Dexamethason erzeugten Kortisol-supprimierten Zustand. **C:** Darstellung des zusätzlichen Messtermins außerhalb des Scanners, der nur für einen Teil der Probanden durchgeführt wurde.

Am ersten Messtag fand die Voruntersuchung statt. Sie bestand aus der durch die Ethikkommission geprüften Studieninformation, einer Anamneseerhebung und einer strukturellen MRT-Untersuchung zum Ausschluss von Gehirnanomalien. Zusätzlich wurden verschiedene psychometrische Selbstbefragungsbögen (siehe Punkt 3.4) zum Ausschluss von akut vorliegenden psychiatrischen Auffälligkeiten und zur Bestimmung von Persönlichkeitsmerkmalen erhoben.

An allen darauf folgenden drei Hauptmessterminen wurde eine kombinierte fMRT/EEG-Ruhenetzwerkuntersuchung durchgeführt. Der erste und zweite Messtermin fanden an aufeinander folgenden Tagen statt; der dritte Messtermin mindestens mit zweitägigem Abstand. Der zusätzliche vierte Messtag fand mit mehrwöchigem Abstand zu den drei Hauptmesstagen statt.

Am ersten Messtermin wurden während der knapp einstündigen kombinierten fMRT/EEG-Messung 20 mg Hydrocortison, gelöst in 10 ml Kochsalzlösung (NaCl 0,9%, bzw. 10 ml Placebo (NaCl 0,9%)) verabreicht. Als Vorbereitungen zur Messung wurde außerhalb des Scanners zunächst die EEG-Kappe am Probanden montiert und der elektrische Kontakt, sowie die Signalqualität der Elektroden zur Kopfhaut des Probanden geprüft (Sollwert < 5 k Ω). Anschließend wurde durch einen Arzt ein intravenöser Zugang gelegt, der bis zur Injektion im Scanner mit einer NaCl Infusion (0,9%) offen gehalten wurde. Um den Einfluss einer tagesrhythmischen Variabilität der Kortisolausschüttung zwischen den Messtagen mit Injektion zu minimieren, startete die fMRT/EEG-Messung an beiden Tagen gegen 16 Uhr. Die Kortisol (bzw. Placebo)-Applikation erfolgte 10 Minuten nach Beginn der fMRT/EEG-Messung. Die Applikation wurde als Bolusinjektion (intravenöse Schnellinjektion) innerhalb von 20 Sekunden verabreicht. Um 23 Uhr des gleichen Tages nahmen die Probanden in Eigenverantwortung 1,5 mg Dexamethason oral ein, als Vorbereitung für den kombinierten Dex/CRH-Test am darauf folgenden Tag.

Der zweite Messtermin begann wiederum mit den EEG-Vorbereitungen. Nach Montage der EEG-Kappe wurde eine weitere kombinierte fMRT/EEG-Messung über 15 Minuten ohne akute Intervention durchgeführt. Diese Messung erfolgte, um den Einfluss von Dexamethason auf das Gehirn in Ruhe zu messen. Die Messung begann um 13:30 Uhr, um den anschließend stattfindenden Dex/CRH-Test unter standardisierten Bedingungen im Schlaflabor des MPIP außerhalb des MRT-Scanners durchführen zu können (für einen detaillierten Ablauf des Tests siehe Methodenteil Punkt 3.2).

Der dritte Messtermin lief analog zum ersten Messtermin ab, wobei zufällig entschieden wurde, welcher Proband am ersten Messtermin eine Hydrokortisoninjektion und am zweiten eine Placeboinjektion erhielt und vice versa.

Der zusätzliche vierte Messtag wurde exemplarisch an vier Probanden im Schlaflabor zeitlich unabhängig von den drei Hauptmessterminen durchgeführt. Diese zusätzliche Messung wurde durchgeführt, um generelle Effekte einer

Kortisolinjektion auf den Organismus, im speziellen auf den Blutdruck, Puls und die Sauerstoffsättigung zu untersuchen. Derartige kardiovaskuläre Effekte hätten die Studienergebnisse methodenbedingt beeinflussen können.

Weitere Details zu den Messungen, deren Auswertung und den verwendeten Tests werden im Methodenteil (Punkt 3) beschrieben. Im Folgenden werden zunächst die in der Studie verwendeten Geräte und Programme zur Datenanalyse aufgeführt.

2.2 Material

Dieser Abschnitt befasst sich mit den für die Aufnahme der Studiendaten angewandten Messgeräten. Dabei wird kurz auf die Entstehungsgeschichte der dahinterstehenden Messverfahren, sowie auf die biologischen Grundlagen der EEG und fMRT-Messungen, eingegangen. Abschließend werden die für die Analyse der Studiendaten verwendeten Computerprogramme aufgeführt. Die Beschreibungen der durchgeführten Verarbeitungsschritte der Daten, unter Verwendung der hier aufgeführten Programme, sind im jeweiligen Methodenabschnitt (Punkt 3 und 4) aufgeführt.

2.2.1 Geräte

2.2.1.1 Funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie (fMRT)

Die funktionelle Magnetresonanztomographie ist ein bildgebendes Verfahren, das durch die Kombinationen eines starken Magnetfelds und hochfrequenter Radiowellen physiologische Funktionen im Inneren des Körpers darstellen kann. Als Begründer der heutigen Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) gelten die Physiker E. Purcell and F. Bloch, die unabhängig voneinander in der Mitte des 20. Jahrhunderts das erste Mal das Phänomen der Kernspinresonanz (eng. nuclear magnetic resonance; NMR) zeigen konnten (Bloch, 1946; Günther, 1986; Purcell et al., 1946). Im zeitlichen Verlauf wanderte die Methode aus dem Bereich der Grundlagenphysik in die analytische Chemie und Biochemie ein.

Die erste publizierte Anwendung in der Medizin war im Jahr 1971, als Damadian ein unterschiedliches Magnetresonanzverhalten von Tumorgewebe und gesunden Gewebe fand (Damadian, 1971). Es folgten methodische Weiterentwicklungen, die vor allem von P.C. Lauterbur und P. Mansfield vorangetrieben wurden, bis schließlich im Jahr 1973 Lauterbur das erste zweidimensionale Magnetresonanzbild von zwei Teströhrchen¹⁵ veröffentlichte (Lauterbur, 1973).

Das erste Magnetresonanzbild eines menschlichen Körpers folgte 1977 (Damadian et al., 1977), wobei die routinemäßige Anwendung von

¹⁵ Die beiden Teströhrchen waren gefüllt mit normalem Wasser (H₂O), die an der Innenwand eines weiteren Röhrchens, das mit deuteratem Wasser (D₂O) gefüllt war, befestigt waren.

Magnetresonanztomographen in der klinischen Praxis erst seit Mitte der Achtziger möglich ist. Beim Übergang zur klinischen Anwendung wurde der Buchstabe „N“ im bis dahin gelten Kürzel „NMR“ gestrichen, um eine Verwechslung mit nuklearmedizinischen Methoden zu vermeiden (Buxton, 2002). Aus ‚NMR‘ wurde das bis heute gebräuchliche „MRT“ oder „MRI“ (engl. magnetic resonance imaging), ein interdisziplinäres Gebiet, dass Forscher aus verschiedenen Bereichen (Neurowissenschaften, Psychologie, Psychiatrie, Radiologie, Physik und Ingenieurwissenschaften) gleichermaßen begeistert.

Neben der strukturellen Kernspintomographie, mit der auch anatomische Anomalien im klinischen Bereich diagnostiziert werden, ist in der modernen Gehirnforschung die funktionelle Kernspintomographie vorherrschend. Mit dieser Methode können physiologische Vorgänge im Gehirn in Ruhe oder nach psychologischer oder pharmakologischer Modulation untersucht werden. Die bahnbrechende Technik, die es Grundlagenforschern ermöglicht, das gesunde menschliche Gehirn zu untersuchen, beruht dabei auf der Beeinflussbarkeit des Kernspinsignals durch Durchblutungs- und Stoffwechselvorgänge.

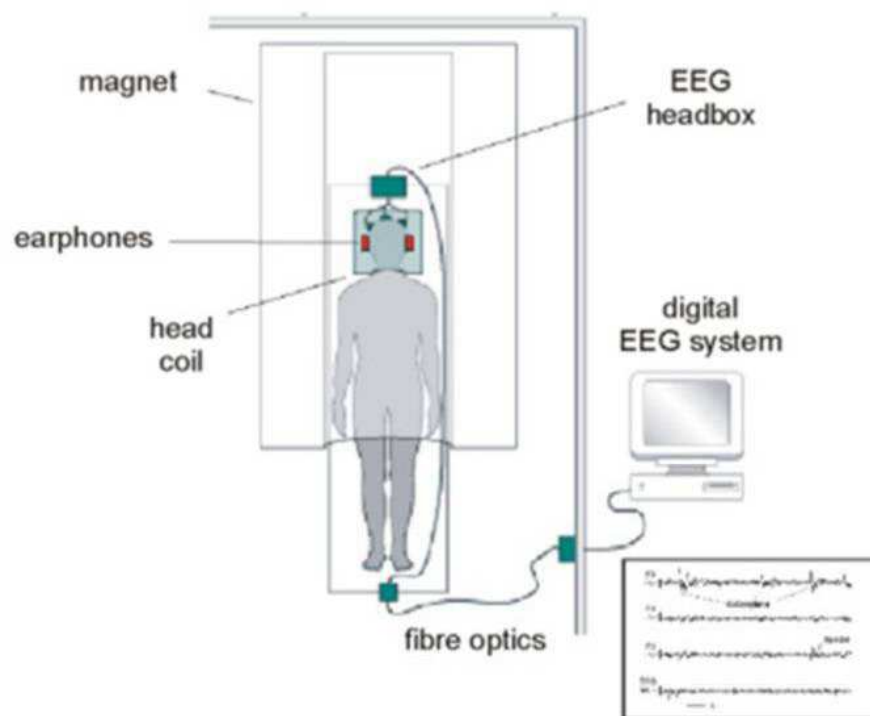


Abbildung 5: Schematische Darstellung der kombinierten EEG/fMRT Aufnahme.
Grafik entnommen aus dem Forschungsbericht der Max-Planck-Gesellschaft (2005)[#]

¹⁶ # Quelle der Grafik <http://www.mpg.de/5711585/Forschungsberichte>

In den folgenden beiden Kapiteln werden die physikalischen und biologischen Grundlagen der funktionellen Magnetresonanztomographie kurz skizziert.

- **Physikalische Grundlagen**

Die physikalischen Grundlagen des MRT sollen hier nur kurz aufgegriffen werden, da sie anderenfalls den Rahmen einer neurowissenschaftlichen Dissertation sprengen würden. Im MRT wird u.a. die unterschiedliche Protonendichte in verschiedenen Gewebearten ausgenutzt um einzelne Strukturen abzubilden. Protonen sind Bestandteil der Atomkerne und besitzen einen Eigendrehimpuls (Spin), aus dem sich die Eigenschaft eines magnetischen Moments für jene Atome ergibt, die eine ungerade Zahl an Protonen aufweisen (Buxton, 2002).

Die MRT basiert dabei im Wesentlichen auf den magnetischen Eigenschaften der Wasserstoffatome im Körper, die das stärkste Signal liefern. Ein Proton (Wasserstoffkern) beschreibt in Ruhe eine kreisförmige Eigenrotation um eine Achse. Diese Eigenrotation einer elektrischen Ladung¹⁷ erzeugt dabei ein kleines Magnetfeld. Sobald ein starkes externes Magnetfeld angelegt wird, wie im Fall eines Tomographen, dann richten sich die Protone nach diesem äußeren Magnetfeld aus (Buxton, 2002). Um ein messbares Signal zu erzeugen, werden während einer Aufnahmesequenz hochfrequente Radiowellen verwendet, um die Wasserstoffatome in Resonanz zu bringen. Die Radiowellen werden dabei pulsartig an- und ausgeschaltet, wobei sie nur jene Protone anregen können, die mit einer bestimmten Frequenz schwingen.

Die Kernspins werden durch die Radiowellen ausgelenkt und führen eine synchrone Rotation mit einer charakteristischen Frequenz (Lamor-Frequenz) um die Magnetfeldachse aus. Nachdem das magnetische Gleichgewicht durch diese Hochfrequenzimpulse gestört wurde, geben die Wasserstoffkerne Energie durch zwei Relaxationsphänomene¹⁸ ab. Zum einen richten sich die Protonen wieder entlang des äußeren Magnetfeldes aus und geben die durch die Anregung der Radiowellen aufgenommene Energie in Form von Wärme an die Umgebung ab. Zum anderen verlieren die Protonen die Synchronität ihrer Kreisbewegung, wodurch das messbare Signal an Intensität verliert. Das elektromagnetische Signal der Kreisbewegung kann von einer Empfängerspule (siehe Abbildung 5, „head coil“) registriert werden und durch zusätzliche Magnetfeldgradienten räumlich zugeordnet werden. Die Stärke der Relaxationsphänomene ist für verschiedene Gewebearten unterschiedlich, was durch ein geeignetes Design der Aufnahme-Sequenz genutzt werden kann, um verschiedene Gewebearten optimal zu kontrastieren.

¹⁷ Ein Proton ist ein subatomares Teilchen, das in jedem Atomkern enthalten ist und eine positive Ladung trägt.

¹⁸ Relaxation beschreibt den Übergang eines Systems in seinen Grundzustand oder Gleichgewichtszustand nach Auslenkung (Hellenthal, 2002)

- **Biologische Grundlagen**

Um zu arbeiten, braucht das Gehirn permanent Glukose und Sauerstoff. Da weder Glukose- noch Sauerstoffspeicherung im Gehirn möglich sind, wird durch den zerebralen Blutfluss (engl. cerebral blood flow, CBF) die permanente Versorgung sichergestellt. Auch wenn das Gehirn nur ca. 2% des Gesamtkörpergewichts beträgt, verbraucht es über 25% des Gesamtglukoseumsatzes um unter anderem elektrische Potentiale für die neuronale Signalübertragung zu generieren (Buxton, 2002). Der lokale Verbrauch der Glukose ist über das Gehirn verteilt verschieden. So verbraucht die Signalübertragung entlang der Axone relative wenig Energie, wohingegen der Signalübertragung an den Synapsen bzw. die Wiederherstellung/ Reorganisation des Ausgangszustandes ein hoher Glukoseverbrauch zugeschrieben wird. Der Zusammenhang zwischen Neuronenaktivität, erhöhtem Metabolismus und der damit einhergehenden Änderung des Blutflusses bildet die biologische Grundlage der funktionellen Bildgebung (Buxton, 2002).

Die Entdeckung, dass sauerstoffarmes Blut andere magnetische Eigenschaften hat als sauerstoffreiches Blut, wurde von verschiedenen Forschergruppen, mit unterschiedlicher Komplexität des Untersuchungsgegenstandes beschrieben (Pauling, 1935; Thulborn et al., 1982). Die entscheidende Verknüpfung zur Kernspintomographie machte Ogawa et al. (1990b) mit in vivo Messungen an Versuchstieren. Ogawa führte auch den Begriff des blood oxygen level dependent (BOLD) Signals ein, der die Abhängigkeit des Bildsignals vom Sauerstoffgehalt des Hämoglobins im Blut beschreibt (Ogawa et al., 1990a). Diese Abhängigkeit beruht darauf, dass deoxygeniertes Blut, das nicht mit Sauerstoff gesättigt ist, paramagnetische Eigenschaften hat¹⁹. Sobald sich aber Sauerstoffmoleküle an das Hämoglobin in den Erythrozyten des Blutes binden, wird Blut diamagnetisch. Somit verändert sich die magnetische Suszeptibilität (Magnetisierbarkeit) des Blutes linear zum Sauerstoffgehalt. Zusammen mit der Annahme, dass sich mit steigender neuronaler Aktivität der regionale Sauerstoffbedarf im Gehirn erhöht und es deshalb zu einem lokal erhöhten Blutfluss kommt (sogenannte hämodynamische Antwort), kann diese Suszeptibilitätsänderung in der funktionellen Bildgebung genutzt werden, um einen Rückschluss auf funktionelle Änderungen im Gehirn zu ziehen.

Die hämodynamische Antwort beschreibt drei unterschiedliche Phasen (siehe Abbildung 6): 1. Eine anfängliche kurze Phase mit leichter Signalabnahme, wobei dieser Signalabfall nicht immer beschrieben ist und nur bei hohen Magnetfeldstärken deutlich wird (Buxton, 2002). Diese Signalabnahme kann dadurch erklärt werden, dass nach Beginn der neuronalen Aktivität der Sauerstoffverbrauch ($CMRO_2$) ansteigt, was zu einer erhöhten Konzentration von Deoxyhämoglobin und damit zum Signalabfall führt. 2. In Reaktion darauf steigt der

¹⁹ Paramagneten sind Materialien die nur magnetische Eigenschaft haben, solange sie in der Nähe eines Magneten sind. (Hellenthal, 2002)

zerebrale Blutfluss und das zerebrale Blutvolumen (CBV), womit mehr Sauerstoff zum Ort der neuronalen Aktivität transportiert wird und die Konzentration des deoxygenierten Hämoglobins wieder sinkt. Diese zweite Phase, die ca. 5-10 Sekunden dauert, stellt die positive BOLD-Antwort dar, die für fMRT-Messungen entscheidend ist. 3. Nach ca. 10 Sekunden erreichen $CMRO_2$ und CBF ihr Ausgangsniveau. Die Regulation von CBV ist langsamer, womit es für einen bestimmten Zeitraum zu einer erhöhten Konzentration von Deoxyhämoglobin, bedingt durch das erhöhte Blutvolumen kommt. Deshalb kommt es abschließend zu einem temporären Signal-Undershoot der bis zu 30 Sekunden dauern kann (Deichmann et al., 2010).

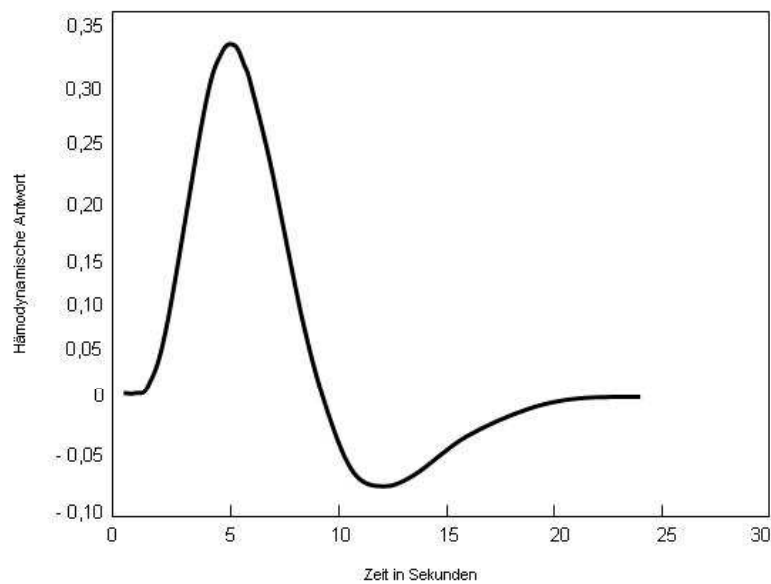


Abbildung 6: Schematische Darstellung einer hämodynamischen Antwort. Anfänglicher möglicher Signalabfall nicht gezeigt, da bei 1.5 Tesla MRT nicht gegeben.

2.2.1.2 Elektroenzephalographie (EEG)

Die Elektroenzephalographie ist eine grafische Darstellung der Spannungsdifferenz zwischen zwei Gehirnregionen über die Zeit (Niedermeyer, 2004). Das erste EEG am Menschen wurde 1924 von dem Physiologen und Psychiater Hans Berger aufgenommen und fünf Jahre später veröffentlicht (Berger, 1929). Im weiteren Verlauf wurden verschiedene normale und auch durch Krankheit veränderte EEG-Phänomene von ihm beschrieben, wie sie zum Beispiel unter besonderer Aufmerksamkeit und kognitiver Anstrengung, oder aber auch nach einer Verletzung oder während eines epileptischen Anfalls vorkommen. Seine Erkenntnisse wurden aber erst nach Replikation durch andere Forschungsgruppen viele Jahre später anerkannt. Seitdem wurde die Methode immer weiter optimiert und ist bis heute, sowohl im klinischen Bereich, als auch in der Tier- und Humanforschung, eine oft verwendete Methode.

- **Biologische Grundlagen**

Das EEG-Signal, das an der Kopfhaut abgeleitet wird, beruht auf Signalpotentialen der zerebralen Neuronen, die bei neuronaler Aktivierung generiert werden. Dabei können zwei Formen der neuronalen Aktivierung unterschieden werden (da Silva, 2010): eine schnelle Depolarisierung der neuronalen Membran, die über den Mechanismus der Natrium/Kalium-Pumpe zur Aktionspotentialgenerierung führt, und die langsamere Änderungen des Membranpotentials über die neurotransmittervermittelte Signaltransduktion an den Synapsen. Zu diesen langsameren (post-)synaptischen Potentialen zählen sowohl exzitatorische als auch inhibitorische Potentiale, die an der nachgeschalteten Postsynapse nach Signalübertragung, je nach Neurotransmitter und Interaktionen der entsprechenden Rezeptoren mit Ionenkanälen, auftreten.

In Folge dieser synaptischen Signalübertragung wird ein Aktionspotential in der Postsynapse evoziert das zur Weiterleitung des Signals im Axon des nachgeschalteten Neurons führt. Im Gegensatz zu schnell generierten Aktionspotentialen können sich diese postsynaptischen Potentiale überlagern oder aufsummieren und vor allem im Bereich der Dendriten langsam veränderliche Summenpotentiale bilden. Diese Summenpotentiale wiederum sind Ausgangspunkt der räumlich weitreichenden kortikalen Potentialfelder, die an der Kopfhaut über die EEG-Elektroden abgeleitet werden können (Zschocke, 2002). Von besonderer Bedeutung für das EEG sind Neurone, die in senkrechter Orientierung zur Hirnrinde verlaufen (Pyramidalneurone).

Die abgeleiteten Signale können aber durch folgende Störfaktoren beeinflusst werden: 1) die elektrischen Leitfähigkeitseigenschaften der Gewebe, die zwischen der Potentialquelle der Neuronen und der Signal detektierenden Elektrode an der Kopfhaut liegen; 2) die Leitfähigkeit der Elektrode selbst und 3) die Orientierung der Signal generierenden Neuronen zu den Elektroden (Olejniczak, 2006). Durch spezielle Elektrolytpasten, die den Widerstand an der Elektrode und der Kopfhaut reduzieren können, wird ein Teil dieser Störfaktoren minimiert. Klinisch wird das EEG vielfältig eingesetzt, wie zum Beispiel in der Epilepsie-Diagnostik, der Schlafmedizin oder bei entzündlichen Hirnerkrankungen. Ebenso viele Möglichkeiten gibt es in der Gehirnforschung. Speziell im Bereich der funktionellen Bildgebung ergänzt das EEG die mangelnde zeitliche Auflösung der MRT (Zschocke, 2002).

Des Weiteren kann das EEG wie auch in der vorliegenden Arbeit zur Vigilanzkontrolle der Probanden bei Ruhenetzwerken verwendet und unter Verwendung von scannertauglichem Equipment zeitgleich zum MRT aufgenommen werden. Ein Nachteil der Methode ist, dass die Signale vornehmlich durch Neurone nahe der Schädeldecke generiert werden, wodurch sich eine nur geringe räumliche Auflösung ohne direkte Aussagekraft über tiefer liegende Strukturen ergibt (da Silva, 2010).

2.2.2 Verwendete Software und Programme

2.2.2.1 Matlab

Matlab ist eine mathematische Software für technische Berechnungen, sowie eine Umgebung für Algorithmenentwicklung, Visualisierung und Analyse von Daten (<http://www.mathworks.de/products/matlab/index.html>). Zur Datenprozessierung wurde die Version Matlab2008b verwendet, wobei vor allem die fMRT-Daten über in Matlab geschriebene Skripte und SPM-Funktionen und Toolboxen präprozessiert und analysiert wurden.

2.2.2.2 Statistical parametric mapping (SPM)

SPM (Friston, 2004) ist eine umfangreiche kostenlose Matlab-Applikation (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>) zur Bildnachverarbeitung. Mit dieser Applikation ist es möglich, komplexe statistische Prozesse zu berechnen, wie sie in der Analyse von bildgebenden Daten benötigt werden, um funktionelle und/oder anatomische Hypothesen zu testen. SPM beruht dabei hauptsächlich auf einem Voxel²⁰-basierten Verfahren, mit dem, unter Verwendung von klassischer Inferenz Aussagen über regionale Änderungen im Gehirn getroffen werden können, die auf experimentellen Faktoren beruhen. Dazu werden statistische parametrische Karten nach entsprechender Vorverarbeitung der Daten durch das allgemeine lineare Modell (GLM) auf Voxel-Niveau gebildet. In der vorliegenden Arbeit wurde die Version SPM8 verwendet. Zusätzlich wurden die Automated Anatomical Labeling, kurz AAL (Tzourio-Mazoyer et al., 2002) und Anatomy Toolbox (Eickhoff et al., 2005) zur Regionendefinition in die Analysen mit eingeschlossen.

2.2.2.3 FMRI Software Library (FSL)

FSL (Smith et al., 2004) ist eine weitere Programmbibliothek der Universität Oxford, die ebenfalls zahlreiche Funktionen zur räumlichen oder zeitlichen Vorverarbeitung sowie statistische Analysen von fMRT-Daten bereit hält.

2.2.2.4 Interactive Data Language (IDL)

IDL ist eine Software zum Analysieren und Visualisieren von Bilddaten (<http://www.creaso.com>). Es wurden Arbeitsgruppeninterne Skripte mit der Version 6.4 zur (Prä-)Prozessierung der fMRT-Daten verwendet.

2.2.2.5 BrainVision Recorder und Analyzer®

BrainVision Recorder und Analyzer (<http://www.brainproducts.com/index.php>) sind die Aufnahme- und Auswertesoftware die zur Aufnahme und Auswertung der EEG-Daten in der kombinierten EEG/fMRT-Messung verwendet wurden.

²⁰ Ein Voxel ist ein dreidimensionaler Bildpunkt an einer XYZ-Koordinate im Datensatz.

2.2.2.6 SPSS

SPSS ist eine Statistik-Software (Version 17), die für statistische Standard-Analysen (wie zum Beispiel Korrelationen) der EEG- und fMRT-Daten, sowie für die statistische Auswertung der Fragebögen und der endokrinologischen Tests verwendet wurde.

2.2.2.7 GraphPad Prism

Mit GraphPad Prism wurden alle statistischen Graphen der vorliegenden Studie erstellt. (<http://www.graphpad.com>).

2.3 Angewandte Methoden

Im folgenden Kapitel wird nach einer kurzen Einführung in die kombinierte EEG/fMRT-Messung, die Datenaufnahme für die Studie, die Vorverarbeitung (Präprozessierung) dieser Daten, sowie die angewandten Analysemethoden vorgestellt. Im anschließenden Analysekapitel werden die Methoden in Bezug zu der jeweiligen Fragestellung beschrieben.

2.3.1 Kombinierte EEG/fMRT-Messung

Ursprünglich wurde die Kombination der beiden Methoden (EEG und fMRT) dazu entwickelt, um die Ursache der pathologischen Aktivitäten bei Epilepsiepatienten, die mit Hilfe des EEG detektiert werden, räumlich zu lokalisieren und genauer untersuchen zu können (Rosenkranz und Lemieux, 2010). Durch technische Weiterentwicklungen fand diese Kombination in den letzten Jahren auch abseits der klinischen Forschung immer weitere Anwendungsgebiete in der humanen neurowissenschaftlichen Grundlagenforschung. Die dort messbaren Korrelate kognitiver Ereignisse des menschlichen Gehirns bestehen sowohl aus elektromagnetischen Feldern, die mit dem EEG detektiert werden können, als auch aus der hämodynamischen Antwort, die durch das fMRT gemessen wird (Herrmann und Debener, 2008). Dabei stellt das EEG die Synchronisation elektrischer Aktivität der Neurone dar und folgt damit der zeitlichen Skala der ihnen zugrundeliegenden Prozesse, was sich in einer guten zeitlichen Auflösung widerspiegelt.

Die fMRT hingegen beschreibt den Sauerstoff- bzw. Energieverbrauch der Neurone und hat eine limitierte zeitliche Auflösung von mehreren Sekunden, dafür jedoch eine sehr gute räumliche Auflösung (Herrmann und Debener, 2008). Durch die simultane Aufnahme werden die zeitliche Auflösung des EEG und die räumliche Auflösung des fMRT integriert, um eine bestmögliche Lokalisation der durch die Experimentbedingungen beeinflussten oder die durch pathologische Veränderungen eingeschränkte Gehirnareale zu erzielen (Debener et al., 2006; Hopfinger et al., 2005). Allerdings muss bei der Kombination der Methoden auf

folgende Punkte gesondert geachtet werden: die Probandensicherheit, die EEG-Qualität, sowie die Bildqualität des MRT (Allen, 2010).

In der vorliegenden Arbeit wurde die kombinierte EEG-Messung vor allem zur Vigilanzkontrolle der Probanden verwendet, da aus verschiedenen Studien bekannt ist, dass sich die Ruhenetzwerke des Gehirns in Abhängigkeit des Vigilanzstatus verändern (Horovitz et al., 2008; Sämann et al., 2011). Im Folgenden werden die Datenaufnahme für die EEG/fMRT-Messung und deren Verarbeitung, die endokrinologischen Testungen, ins besondere der Dex/CRH-Test, sowie am Ende des Methodenkapitels die für die Studie verwendeten Fragebögen beschrieben.

2.3.2 EEG

2.3.2.1 Datenaufnahme

Das EEG wurde parallel und synchronisiert, d. h. zeitlich abgestimmt, zu den Ruhe-fMRT-Messungen aufgenommen. Dazu wurden ein MRT-kompatibles EEG-System (VisionRecorder Version 1.03, Brain Products, Gilching, Germany), sowie eine MRT-kompatible EEG-Kappe mit 19 Elektroden, die nach dem internationalen 10/20 System montiert sind (Easycap GmbH, Herrsching, Germany), verwendet. Das 10/20 System gibt dabei das Maß für die Abstände zwischen den benachbarten Elektroden auf der EEG-Kappe wieder. Diese Abstände betragen (auf Referenzpunkte am Schädel bezogen) 10% bzw. 20% der kompletten Länge des Schädels, von vorne nach hinten bzw. von links nach rechts gemessen. Dieses einheitliche System wurde eingeführt, um die Ergebnisse zwischen EEG-Studien vergleichbar zu machen (DGKN, 2012)²¹. Des Weiteren beinhaltete die Kappe drei zusätzliche Elektroden für ein Elektrookulogramm, drei Elektroden für ein Elektromyogramm, sowie zwei Elektroden für ein Elektrokardiogramm. Diese zusätzlichen Elektroden dienten der kardioballistischen Artefaktkorrektur während der Präprozessierung.

Alle Elektroden wurden auf die FCz Elektrode (siehe Abbildung 7) referenziert. Die EEG-Daten wurden mit einer Abtastrate von 5 kHz aufgenommen, wobei die Impedanz an den Elektroden auf möglichst unter 5 k Ω gehalten wurde. Dieser geringe Widerstand an den Elektroden wurde einerseits durch die Reinigung der Kopfhaut der Probanden mit einer entfettenden Paste (Spezialanfertigung der Apotheke des Schwabinger Krankenhauses, München) und andererseits durch Auftragen einer abrasiven Elektrolytpaste (Abralyt 2000 chloridfrei; EASYCAP GmbH, Herrsching, Deutschland), die durch ihre elektrisch leitende Eigenschaft das Signal bestmöglich an die Elektroden überträgt, erzielt.

²¹ Eine Empfehlung der deutschen Gesellschaft für klinische Neurophysiologie und funktionelle Bildgebung (DGKN)

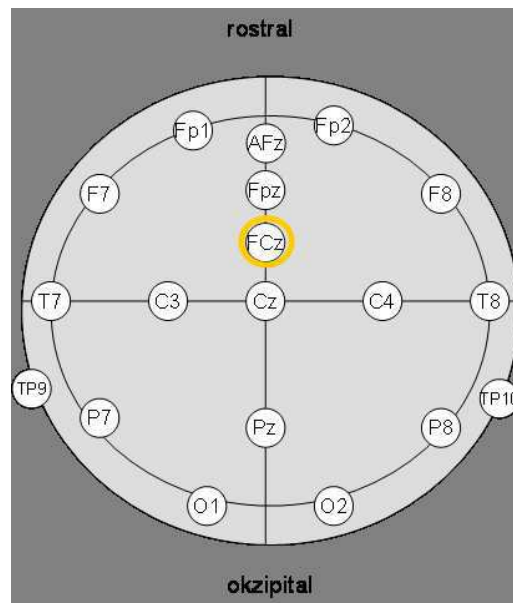


Abbildung 7: Schematische Darstellung der Elektrodenanordnung auf der EEG-Kappe. FCz (Orange) ist die Referenzelektrode. Abbildung modifiziert nach <http://www.easycap.de>

Die Synchronisation des EEG mit dem MRT erfolgte über die Masterclock des MRT-Scanners (10 MHz). Zusätzlich wurden Triggerpulse (TTL Signale) des MRT-Systems für die spätere Artefaktbereinigung aufgezeichnet. Dieses Signal wird exakt jedes Mal zu dem Zeitpunkt ausgesandt, an dem eine neue Schicht aufgenommen wird. Um zusätzlich auftretende Artefakte durch Vibration der Ableitdrähte zu vermeiden, wurden diese, wie auch das komplette EEG-System, mit Sandsäcken während den Messungen im MRT fixiert. Durch die Aufnahme des EEG innerhalb des Scanners ergeben sich besondere Artefaktquellen, die das EEG-Signal überlagern und eine spezielle Vorverarbeitung erfordern (Abbildung 8). Erst nach der Artefaktbereinigung kann die eigentliche Analyse der Daten, die visuelle Schlafstadienklassifizierung nach Rechtschaffen und Kales (1968), erfolgen. Die einzelnen Schritte der Vorverarbeitung werden im folgenden Kapitel dargestellt.

2.3.2.2 Präprozessierung

Alle Schritte der EEG-Präprozessierung wurden mit der VisionAnalyzer-Software (Version 1.05, Brain Products, Gilching Germany) durchgeführt. Zunächst wurden die Daten von Gradienten und kardioballistischen Artefakten bereinigt. Gradientenbasierte Artefakte entstehen durch die wechselnde Stärke und Polarität der angelegten elektromagnetischen Felder (Gutberlet, 2009). Im Gegensatz zu den individuell unterschiedlichen kardioballistischen Artefakten sind Gradienten induzierte Artefakte technische Artefakte, die zwischen den einzelnen Aufnahmen gleichartig sind. Kardioballistische Artefakte entstehen durch den Herzschlag des Probanden, den Pulsationen unterhalb der Elektroden bzw. durch veränderte Kapazität durch den variablen Blutfluss während eines Herzschlag-Intervalls.

Zusätzliche Artefaktquellen sind Augen- und Muskelbewegungen sowie Atmungsartefakte.

Bevor die Bereinigung der EEG-Daten von diesen Scanner-Artefakten mit der „Average Subtraction“-Methode erfolgen kann, werden die Abschnitte markiert, in denen ein MRT-Artefakt vorliegt und der Datensatz eines Messtages jeweils in diese Unterabschnitte gegliedert. Daraus ergeben sich je drei Segmente für den ersten und dritten Messtag und zwei Segmente für den zweiten Messtag. Für jedes Segment werden mit der „Slice-to-Volume“-Funktion der BrainAnalyzer Software® die Zeitpunkte der Aufnahmen über die Schicht-Marker (je ein Marker pro Beginn der Einzelschicht-Aufnahme) zu einem gemeinsamen Marker zusammengefasst, der den Beginn der Aufnahme eines kompletten MR-Volumens markiert. Erst dann kann die eigentliche MRT-Artefaktkorrektur beginnen, wofür ein Mittelwert über je 10 Artefaktzeitpunkte berechnet wird.

Anschließend werden die Daten von den kardioballistischen Artefakten durch eine Unabhängigkeitsanalyse (engl. Independent Component Analyse, ICA) bereinigt (Briselli et al., 2006; Czisch et al., 2009). Dazu werden zunächst über eine manuelle Sichtung der Datensätze jene EEG-Kanäle markiert, die fehlerbedingt kein physiologisches Signal aufweisen. Anschließend wird das EEG-Signal der verbleibenden Elektroden durch eine ICA in seine einzelnen Signalkomponenten zerlegt. Vor der darauf folgenden Rücktransformation werden all jene Komponenten, die synchron mit dem EKG-Signal oder Augenbewegungen sind, ausgeschlossen. Nach der ICA werden abschließend die EEG-Daten Hochpass (0,5 Hz) und Tiefpass (30 Hz) gefiltert, sowie einem Notchfilter (50 Hz) unterzogen, um weitere Störfrequenzen zu eliminieren. Die Schritte der Vorverarbeitung bzw. die sichtbare Verbesserung der Datenqualität sind in Abbildung 8 grafisch dargestellt.

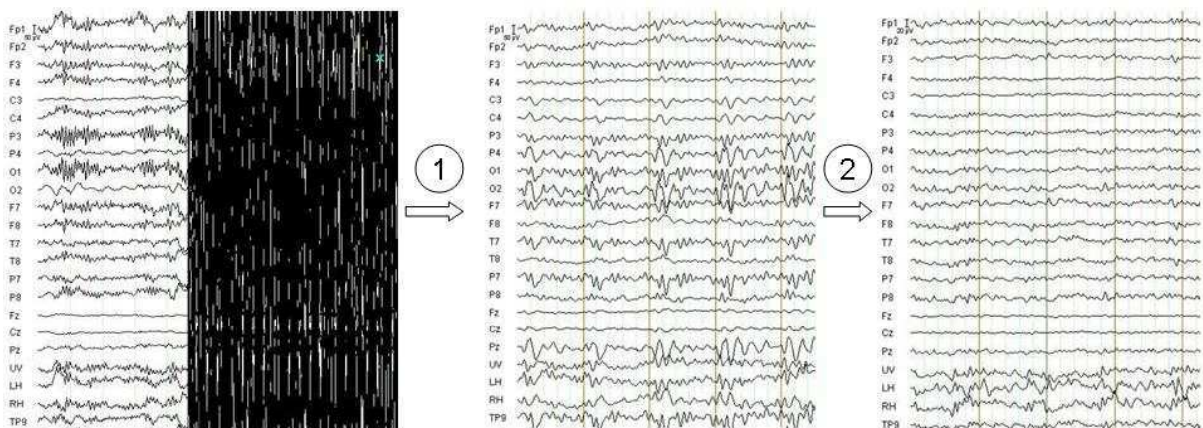


Abbildung 8: Mehrstufige Artefaktbereinigung der EEG Daten und Darstellung der dadurch erzielten Verbesserung der Datenqualität Schritt 1: Eliminierung der Scanner Artefakte, Schritt 2: Eliminierung der kardioballistischen Artefakte und Filterung der Daten. Dargestellt ist eine Auswahl an Elektroden.

2.3.2.3 Vigilanz-Scoring durch visuelle Analyse

Nach Bereinigung der EEG-Daten wurden zwei verschiedene Ansätze zur Vigilanzanalyse verwendet. Zunächst wurde in Anlehnung an Olbrich et al. eine halbautomatische Berechnung der Vigilanzstadien angestrebt (Olbrich et al., 2009). Dazu wurde der Datensatz der Messtage in zwei Sekundenabschnitte segmentiert und eine schnelle Fourier-Transformation (FFT) über diese Segmente berechnet. Eine halbautomatische Berechnung der Vigilanz erfolgte anschließend anhand der Werte der Powerspektrum-Analyse (Olbrich et al., 2009). Diese Methode wurde verworfen, da sie primär entwickelt wurde, um einzelne Wach- und Schlafstadien genauer zu unterscheiden und sich für die vorliegende Notwendigkeit einer Einteilung in Wach oder Schlaf als nicht adäquat erwies. Deshalb wurde auf die gängige Methode der manuellen Klassifizierung nach Rechtschaffen und Kales (1968) zurückgegriffen. Dazu wurde eine Neureferenzierung der EEG-Kanäle auf das Mittelwertsignal der beiden Elektroden hinter dem Ohr (TP9 und TP10, ‚Pseudo-Mastoid-Referenz‘; für die Position der Elektroden siehe Abbildung 7) durchgeführt. Der gesamte Datensatz wurde hierfür in 30 Sekunden lange Zeitfenster unterteilt und manuell klassifiziert, wobei jedem Zeitfenster ein Vigilanzwert (0 für wach, 1 bzw. 2 für das erste bzw. zweite Schlafstadium) zugeordnet wurde.

Anschließend wurden, je nach Fragestellung, die verwendeten Datenabschnitte dahingehend untersucht, ob sich die Vigilanz der Probanden über die Zeit ändert bzw. ob es einen signifikanten Unterschied in der durchschnittlichen Vigilanz der Probanden zwischen den einzelnen Messtagen gab. Im Folgenden beziehen sich die Angaben zur Vigilanzermittlung immer auf die manuelle Klassifizierung nach der Rechtschaffen und Kales Methode (1968).

2.3.3 fMRT

2.3.3.1 Datenaufnahme

Die anatomischen wie auch die funktionellen Daten wurden in einem 1,5 Tesla Scanner (Signa Excite, GE, Milwaukee, USA) unter Verwendung einer 8-Kanal Kopfspule aufgenommen. Die anatomischen Aufnahmen, die als Teil der klinischen Voruntersuchung aufgenommen wurden, wurden mit einem standardisierten Protokoll aufgenommen (128 Schichten mit 1,2 mm Schichtdicke und Abstand dazwischen; TR: 9,7 ms TE: 2,1 ms; 25 cm FOV). Die funktionellen Daten wurden mit einer Sequenz nach dem Echo-Planar Verfahren mit folgenden Einstellungen aufgenommen: Pro Volumen²² 28 Schichten (4 mm Schichtdicke, 0,5 mm Abstand zwischen den einzelnen Schichten, 80° Anregungswinkel, 64 x 64 Matrix, 20 cm FOV), AC-PC Orientierung. Die Zeit zwischen den Aufnahmen zweier aufeinanderfolgender Volumen (repetition time (TR)) betrug 2000 ms, die

²² Ein Volumen bezeichnet die Aufnahme eines Gehirnbildes, das in dieser Studie aus 28 Einzelschichten bestand.

Zeit zwischen einem Puls und dem Peak des Echosignals²³(echo time (TE)) betrug 30 ms. Für jeden Proband wurden insgesamt 3600 Bilder aufgenommen, jeweils 1614 Bilder für Messtermin eins und drei, sowie 372 Bilder an Messtermin zwei. Daraus ergibt sich eine Gesamtmesszeit von ca. 54 Minuten für Messtermin eins und drei, sowie ca. 12 Minuten für Messtermin zwei.

Die gleiche Lagerung der Probanden im Scanner zwischen den einzelnen Messterminen wurde mit Hilfe eines Laser-Rasters, der über den Augenwinkeln zur exakten Lokalisation positioniert wurde, gewährleistet. Der Kopf wurde zusätzlich zu den Schaumstoffeinsätzen in der Spule mit einem Softtape, das unter dem Kinn entlang geführt wurde, an der Spule fixiert.

Zur Minimierung der Lärmbelästigung trugen die Probanden Ohrstöpsel und Kopfhörer. Bei allen drei Messtagen wurden die Probanden instruiert, sich im Scanner nicht zu bewegen, Arme und Beine nicht zu überkreuzen, die Augen geschlossen zu halten, an nichts Besonderes zu denken und dabei nicht einzuschlafen (Fox und Raichle, 2007).

2.3.3.2 Präprozessierung

Die Daten der fMRT-Aufnahme müssen wie die EEG-Daten vor den eigentlichen Analysen zur Hypothesentestung von Signalen nicht-neuronalen Ursprungs bereinigt werden. Seit einiger Zeit wird in der MR-Literatur intensiv diskutiert, dass unterschiedliche Präprozessierungen einen zum Teil erheblichen Einfluss auf die Aktivierungskarten des Gehirns haben können und damit die Ergebnisse der Studien beeinflussen.

In Anlehnung an Weissenbacher et al. (2009) wurden daher zunächst verschiedene Möglichkeiten der Präprozessierung getestet und diejenige mit der geringsten Einflussnahme auf die Daten zur finalen Datenanalyse ausgewählt. Die verschiedenen Ansätze sowie die endgültige Methode werden nach dem Kapitel zu den Schritten der unspezifischen Präprozessierung dargestellt.

2.3.3.3 Unspezifische Präprozessierung

Die Schritte, die hier unter „unspezifische Präprozessierung“ (siehe Abbildung 9 für eine graphische Darstellung) zusammengefasst werden, haben zum Ziel, alle Aufnahmen eines Probanden im Scanner aufeinander abzustimmen, sowie die Aufnahmen aller Probanden in einen standardisierten Raum zu übertragen. Dazu wurden Funktionen mit den Standardeinstellungen der SPM8 Software, FSL4.1 Toolboxes und IDL-Skripte verwendet.

23 Ein Echo im MRT Kontext bezeichnet die Energieemission der Atomkerne, wie sie nach Anregung durch einen hochfrequenten Puls während einer Aufnahme vorkommt, in Form von elektromagnetischer Resonanz.

Slice-time-Korrektur

Bei der Slice-time-Korrektur wird der zeitliche Aufnahmefehler zwischen den einzelnen Schichten korrigiert, da nicht alle Schichten innerhalb eines Volumens zur gleichen Zeit aufgenommen werden können. Die Daten der einzelnen Schichten eines Volumens wurden verschoben (engl. interleaved) aufgenommen, d. h. dass zuerst die Schichten mit ungerader Zahl aufgenommen und dann jene mit gerader Zahl aufgenommen wurden (Schichtfolge 1 3 5 7...27 2 4 6...28). Durch Interpolation der Daten in jedem Bildpunkt einer Schicht über die gesamte Messzeit kann die Bildpunktintensität zu einem vorab bestimmten Referenzwert bestimmt werden. Hierzu wurde die Aufnahmezeit der ersten Schicht gewählt.

Realignment

Bei diesem Schritt wird eine „rigid body transformation“ verwendet, um die einzelnen Aufnahmen innerhalb einer Messung aneinander anzugleichen. Diese Angleichung erfolgt über automatische Rotation und Verschiebung der einzelnen Volumen, die die Unterschiede zwischen den einzelnen Volumen zu einem Referenzvolumen minimiert (Hermans, 2002). Das Realignment wird dazu verwendet, Bewegungsartefakte der Probanden während der Messung zu korrigieren. In der vorliegenden Arbeit wurde dafür das Mittelwertbild als Referenz für alle anderen Bilder einer Messung verwendet. Datensätze mit mehr als 2 mm Translations- und mehr als 0,5° Rotationsbewegungsartefakte wurden ausgeschlossen.

Spatial normalisation

Die individuelle Gehirnanatomie des Menschen wird bei der räumlichen Normalisierung mit nicht-linearer Transformation auf ein Referenzgehirn in einen standardisierten Raum (MNI²⁴) angepasst. Dies ermöglicht den Vergleich zwischen den Probanden einer Studie und ermöglicht des Weiteren einen Vergleich von Ergebnissen zwischen Studien aus verschiedenen Instituten. In der vorliegenden Arbeit wurde ein standardisiertes Referenzbild (EPI template) aus SPM8 zur Standardisierung der Bilder im MNI-Atlasraum mit einer Interpolation von 2x2x2 mm³ für die räumliche Normalisierung gewählt.

Brain extraction

In diesem Schritt werden mit einem automatischen Programm alle Bildpunkte aus den fMRT-Aufnahmen entfernt, die nicht als Gehirngewebe klassifiziert werden (FSL 4.1 Brain extraction tool (Smith, 2002)). Dieser Schritt ermöglicht eine präzisere Datenanalyse, da Störsignal von Gewebe ausserhalb des Gehirns aus den Bildern eliminiert werden.

²⁴ Eine vom *Montreal Neurological Institute* entwickelte Gehirnschablone. Die derzeitige MNI-Schablone (ICBM152) beruht auf dem Mittelwert von 152 normal gemessenen fMRT Bildern.

Zusätzlich wurden durch einen weiteren Präprozessierungsschritt unter Verwendung eines IDL-Skripts jene Regionen entfernt, die ein Signal-Rausch-Verhältnis < 30 aufwiesen. Damit werden vor allem jene Störsignale, die durch Signalauslöschung im Bereich der Stirn- und Nebenhöhlen entstehen, aus den Daten gefiltert.

Smoothing

Smoothing ist ein Glättungsverfahren, bei dem ein Mittelwert über eine bestimmte Gruppe von räumlich benachbarten Bildpunkten berechnet wird. Dies erfolgt normalerweise durch eine Filtermaske, wobei davon ausgegangen wird, dass innerhalb einer Region eine homogene Signalstärke vorliegt. In der vorliegenden Studie wurde ein sogenannte kantenerhaltender Filter (engl. „edge-perserving“) mit Hilfe des Programms SUSAN (Smith und Brady, 1997) angewandt. Die Besonderheit dieses nicht linearen räumlichen Filters ist dabei, dass bei der Glättung alle Grenzflächen der Gehirnstrukturen erhalten bleiben. Dies erfolgt durch ein Glättungsverfahren, das nur innerhalb jener Bildpunkte stattfinden kann, die von der gleichen Gewebeart stammen, also ein ähnliches Signal haben. Signalsprünge an Gewebegrenzen (beispielsweise Liquor/Kortex-Übergänge) bleiben so erhalten.

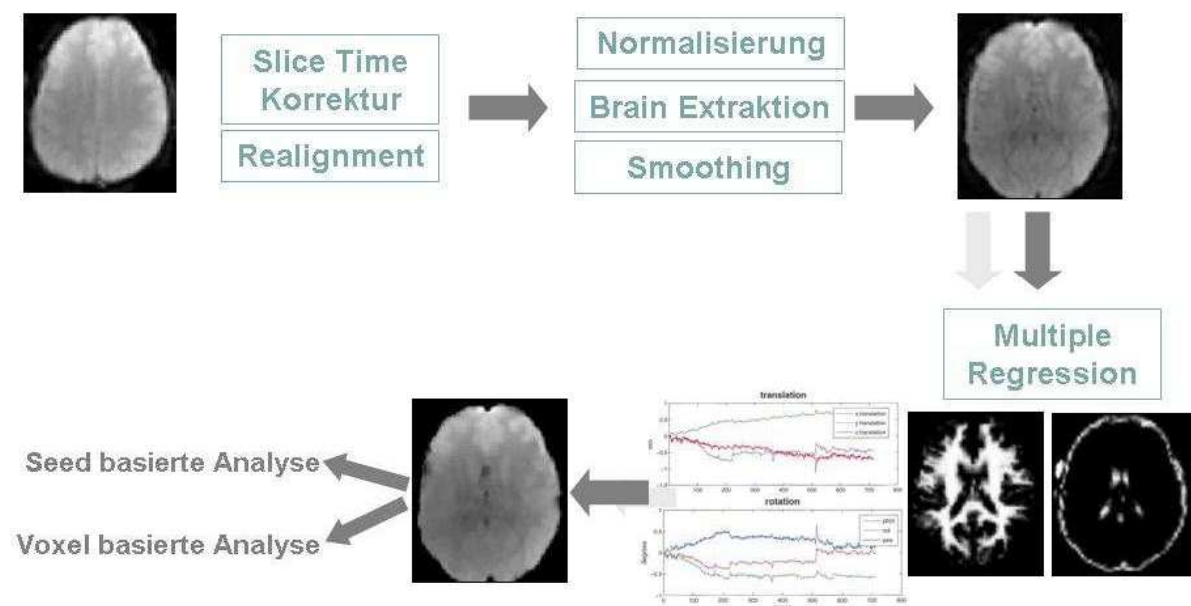


Abbildung 9: Grafische Darstellung der wichtigsten Präprozessierungsschritte der fMRT-Daten.

2.3.3.4 Methodenvergleich weiterer Präprozessierungsschritte

Über die Notwendigkeit der oben beschriebenen unspezifischen Vorverarbeitungsschritte, die die Eliminierung der Bewegungsartefakte mit einschließt, herrscht weitgehend Einigkeit unter den bildgebenden Forschern (Cole et al., 2010).

Zusätzliche Vorverarbeitungsschritte sind allerdings notwendig, um den bei einer Regression zwischen dem BOLD-Signal und der Zeitreihe der Interessenregion auftretenden Autokorrelationen im Gehirn, die bedingt durch unspezifische Signalschwankungen nicht-neuronalen Ursprungs zu artefaktbedingten Co-Korrelationen führen können, Rechnung zu tragen.

Über diese weiteren Vorverarbeitungsschritte zur Vorbereitung für funktionelle Konnektivitätsanalysen gibt es kontroverse Meinungen in der Fachliteratur (Cole et al., 2010; Weissenbacher et al., 2009). Es wurde gezeigt, dass die Eliminierung von lokalen Störsignalen, wie sie zum Beispiel von der weißen Substanz oder der Zerebrospinalflüssigkeit erzeugt werden, die Qualität der fMRT-Daten erheblich verbessern (Fox et al. 2005). Hierzu wurden in den letzten Jahren verschiedene Möglichkeiten präsentiert und bezüglich ihrer Vor- und Nachteile für spätere Analysen diskutiert. Es können zum Beispiel binäre Masken der grauen Substanz mit verschiedenen Schwellen (d. h. unterschiedlich strenger Klassifizierung eines Bildpunktes als graue Substanz) verwendet werden, um die fortführenden Analysen auf diese Regionen einzuschränken. Alternativ können beispielsweise Zeitreihen der Gewebe, die Störsignale verursachen, als Kovariaten in das statistische Analysemodell eingeschlossen werden (Cole et al., 2010). Zu den lokalen Störsignalen zählen auch globale Signalschwankungen im Gehirn, die nicht neuronalen Ursprungs sind.

Der Einschluß der globalen Signalschwankungen in das statistische Analysenmodell steht jedoch im Verdacht, fälschlicherweise negative Korrelationen, sogenannte antikorrelierte Netzwerke, in den Daten zu erzeugen bzw. deren Ausprägung zu verstärken (Murphy et al., 2009). Motiviert durch diese Diskussion wurden in der vorliegenden Arbeit zunächst verschiedene Methoden der Korrektur von Störsignalen nicht-neuronalen Ursprungs bezüglich ihrer Einflussnahme auf die fMRT-Daten getestet.

Im Folgenden werden die drei am meisten angewandten Methoden der insgesamt sieben getesteten Modelle, die sich im Wesentlichen in der Anzahl und Generierungsart der in das statistische Modell einzuschließenden Kovariaten unterscheiden, aufgeführt und deren unterschiedlicher Einfluss auf die Daten graphisch verdeutlicht (siehe Abbildung 10).

Um den Effekt der jeweilig verwendeten Methode zu untersuchen, wurden positive und negative Autokorrelationskarten für einen einzelnen Seed²⁵ im posterioren Gyrus cinguli berechnet. Diese Region wurde gewählt, da es hierfür bereits viele publizierte Ergebnisse zu korrelierten und antikorrelierten Netzwerken gibt (zum Beispiel (Uddin et al., 2009)), die das Maß der Einflussnahme durch die Verarbeitungsweise vergleichbar machen. Im Anschluss an die Beschreibung der unterschiedlichen Modelle wird der für diese Arbeit final gewählte Ansatz zur Eliminierung der nicht-neuronalen Störsignale im Gehirn beschrieben.

²⁵ Seed bezeichnet die Ursprungsregion, deren funktionelles Netzwerk analysiert werden soll.

Für Modell A wurden, zusätzlich zu den gängigen sechs Bewegungsregressoren und deren erster zeitlicher Ableitung, Mittelwerte der Signalschwankungen von der weißen Substanz und von der ventrikulären Zerebrospinalflüssigkeit in das statistische Modell eingefügt (Rombouts et al., 2003). Die entsprechenden Masken wurden aus den für jeden Probanden aufgenommenen anatomischen T1 gewichteten Bildern generiert. Dabei wurde die Wahrscheinlichkeitskarte der Zerebrospinalflüssigkeit, die über den Schritt der „unified segmentation“ in SPM erzeugt wurde, mit einer Atlas basierten Maske der Ventrikel multipliziert, um den Beitrag von Bereichen außerhalb der Zerebrospinalflüssigkeit zu minimieren.

Das Modell B enthält dieselben Regressoren wie Modell A, wobei hier noch ein zusätzlicher Regressor, nämlich der Mittelwert der globalen Signalschwankung, in die Analysen eingeschlossen wurde (Weissenbacher et al., 2009).

Im Modell C wurde die CompCorr-Methode (Behzadi et al., 2007) verwendet. Diese Methode beinhaltet eine Hauptkomponentenanalyse²⁶ (engl. principle component analysis, PCA) für die Signale der weißen Substanz sowie der Zerebrospinalflüssigkeit. Zur Maskengenerierung der beiden Kompartimente wurden Bilder der Ruhenetzwerkmessung im nativen Raum verwendet. In der daran anschließenden Hauptkomponentenanalyse wurde für beide Masken (weiße Substanz und Zerebrospinalflüssigkeit) die drei ersten Hauptkomponenten extrahiert und als Kovariaten in das statistische Modell gespeichert. Die CompCorr Methode ermöglicht eine genauere Identifizierung der nicht-neuronalen Störsignale, da nicht das Signal einer Gewebeart über das gesamte Gehirn gemittelt wird, sondern die natürlich auftretende Varianz der Fluktuationen in verschiedenen Regionen der Analysemaske berücksichtigt wird. Eine Limitation der für die in die weitere Verarbeitung eingeschlossene Anzahl der Komponenten ergibt sich aus dem Verlust der statistischen Aussagekraft mit steigender Anzahl der Kovariaten. Deshalb wurden, zusätzlich zu den Bewegungsregressoren einschließlich deren ersten zeitlichen Ableitung, jeweils die ersten drei Hauptkomponenten als Kovariaten für das statistische Modell der Analyse verwendet.

Die aus dem Vergleich der Modelle resultierenden Karten sind in Abbildung 10 dargestellt. Sie unterscheiden sich im Wesentlichen in der Stärke der antikorrelierten Netzwerke und der Stärke der entsprechenden T-Werte. Modell A und B führten zu einer stärkeren Verschiebung der Korrelationswerte zu negativeren Werten und entsprechend ausgeprägten Antikorrelationen (Kiem et al. im Review). Da Modell A und B offensichtlich artifizielle Antikorrelationen vor allem im Bereich der weißen Substanz generierten, wurde Modell C zur Bereinigung der fMRT von physiologischen Störsignalen verwendet. Alle weiterführenden Analysen basieren also auf der Präprozessierung nach Modell C.

²⁶ In einer Hauptkomponentenanalyse wird ein Signal in verschiedene Komponenten zerlegt. Dabei erfolgt die Zerlegung so, dass die erste Komponente die meisten Signalschwankungen erklärt und alle darauf folgenden Komponenten, die orthogonal zur vorherigen Komponente sind, eine größtmögliche Varianz aufweisen.

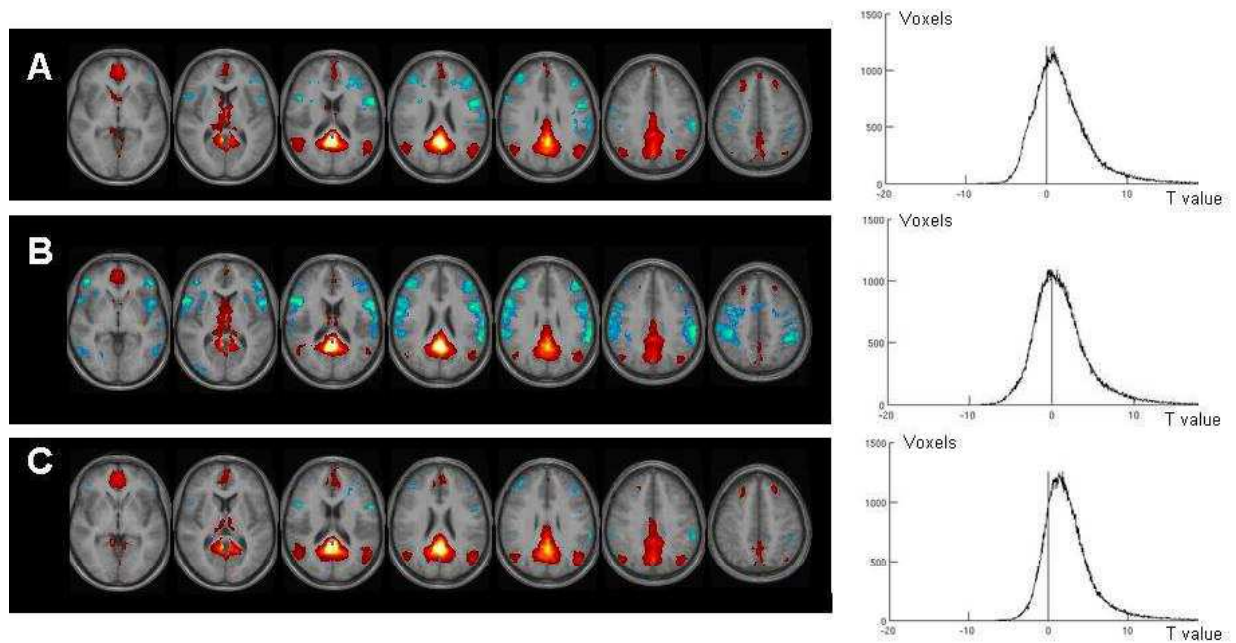


Abbildung 10: Positive (rot) und negative (blau) Korrelationskarten für einen PCC-Seed. Positiv korreliert mit dem PCC zeigt sich das Default Mode Network. In der Grafik dargestellt sind Karten, die auf 40 Ruhenetzwerkmessungen basieren, die mit einer FWE-Schwelle $p_{\text{voxel-FWE}} < 0,0001$ für die positiven und $p_{\text{voxel-unkorr.}} < 0,001$ für die negativen Korrelationen erstellt wurden. Die Karten werden über einen T1- Hintergrund basierend auf den anatomischen Daten der Studienpopulation gezeigt. Zu jeder Korrelationskarte wird das dazugehörige Histogramm der normalisierten Beta Koeffizienten gezeigt.

2.3.3.5 Analysemethoden

Das Ziel der weiterführenden Analysen war, eine Beziehung zwischen der Aktivität der Ruhenetzwerke des Gehirns und (a) dem Dex/CRH-Test und (b) der Modulation durch Placebo- versus Kortisolintervention bzw. der Suppression von Kortisol durch Dexamethason herzustellen. Dazu wurden je Fragestellung verschiedene Analyseansätze angewandt, die im Folgenden kurz vorgestellt werden. Im daran anschließenden Kapitel 4 werden die Analysen dann den Fragestellungen zugeordnet und im Detail aufgeführt.

2.3.3.6 Analyse von seedbasierten Ruhenetzwerken

Diese Analyseform geht zurück auf Biswal et al. (1995), der unter Verwendung der seedbasierten Analyse spontane BOLD-Fluktuationen im motorischem Kortex nachweisen konnte. Greicius et al (2003) verwendeten zum ersten Mal die seedbasierte Methode, um das Default Mode Netzwerk (ein robustes Ruhenetzwerk) zu analysieren.

Vor der Analyse werden Seeds festgelegt, basierend auf in der Literatur publizierten Koordinaten oder unter Verwendung von normalisierten Atlanten (wie zum Beispiel dem unter anderen für die vorliegende Studie verwendeten AAL (Tzourio-Mazoyer et al., 2002)). Aus diesen Seedregionen werden Signale über die

Zeit (sogenannte Zeitreihen) extrahiert und Kreuz-Korrelationskoeffizienten mit den Zeitreihen aller Voxel im Gehirn oder beschränkt auf die Voxel eines bestimmten Netzwerkes berechnet. Über die Kreuzkorrelationskoeffizienten können anschließend funktionelle Konnektivitätskarten dieser Seedregion erstellt werden (Weissenbacher et al., 2009). Diese Karten geben Hinweise auf funktionelle Verknüpfung - positive wie negative - im Gehirn. Die zeitliche Korrelation zeigt dabei synchrone Fluktuationen von den jeweiligen Gehirnregionen an. Kreuzkorrelationen können somit die funktionelle "Kommunikation" zwischen den Arealen anzeigen (Margulies et al., 2010).

Die Stärke der Methode liegt in der relativ einfachen Interpretierbarkeit der Ergebnisse über die entstehenden Konnektivitätskarten, die das funktionelle Netzwerk der Region angeben bzw. dessen Änderung unter den jeweiligen experimentellen Bedingungen (Cole et al., 2010) darstellbar machen. Eine Einschränkung entsteht durch die vorab festgelegten Seedregionen, wodurch sich eine starke Abhängigkeit der Studienergebnisse durch die spezifische experimentelle Hypothese ergibt (Damoiseaux und Greicius, 2009). Des Weiteren muss berücksichtigt werden, dass es ebenso viele Netzwerke wie Seedregionen gibt. Wird daher ein einzelnes Netzwerk isoliert untersucht und interpretiert, werden zur gleichen Zeit alle anderen Netzwerke und deren möglicher Einfluss aufeinander und untereinander vernachlässigt (Damoiseaux und Greicius, 2009). Schließlich können einzelne Seedregionen auch Teil mehrerer unterschiedlicher funktioneller Netzwerke sein.

2.3.3.7 Voxelbasierte Analysen

Ein anderer Auswertansatz der Ruhenetzwerkdaten sind datengetriebene Methoden, die im Gegensatz zu seedbasierten Methoden keiner Vorauswahl von Regionen oder Atlanten unterliegen. Neben der unabhängigen Komponentenanalysen (ICA) und graphentheoretischen Ansätzen wurde die Methode der funktionellen Konnektivitätsdichtemessung (engl. "functional connectivity density mapping", FCDM (Tomasi und Volkow, 2010a)) entwickelt. Allen datenbasierten Methoden gemein ist, dass es keine Einschränkung bezüglich der vorab zu bestimmenden Analyseregion gibt (Margulies et al., 2010). An dieser Stelle wird nur auf die Konnektivitätsdichtemessung (FCDM) im Speziellen eingegangen, da sie für die vorliegende Arbeit verwendet wurde.

Diese Methode erlaubt eine Kartierung derjenigen Regionen, die eine hohe Dichte an funktionellen Konnektivitäten aufweisen. Als Konnektivitätsdichte kann die durchschnittliche Konnektivität eines Voxels verstanden werden, die dieses Voxel mit allen anderen Voxeln im Gehirn unterhält. Hierfür wird zunächst eine Korrelationsmatrix der Größe $N \times N$ berechnet (N : Anzahl der Voxel der grauen Substanz). Pro Voxel kann daraus anschließend die durchschnittliche Konnektivität berechnet werden. Alternativ kann auch eine Zahl der Konnektivitäten über einen bestimmten z' -Wert bestimmt werden, beispielsweise alle Voxel mit $z' > 0,3$ zum Zielvoxel (Tomasi und Volkow, 2010b). Daraus ergeben

sich Karten, die die Dichte der funktionellen Konnektivität über das Gehirn abbilden (van den Heuvel et al., 2008).

2.3.4 Dex/CRH-Test

Der Dex/CRH-Test wurde nach dem am Max-Planck-Institut für Psychiatrie standardisierten Verfahren durchgeführt (Heuser et al., 1994a; Ising et al., 2007). Der Testaufbau ist schematisch in Abbildung 11, der Ablauf in der Abbildung zum Studiendesign (Abbildung 4) dargestellt.

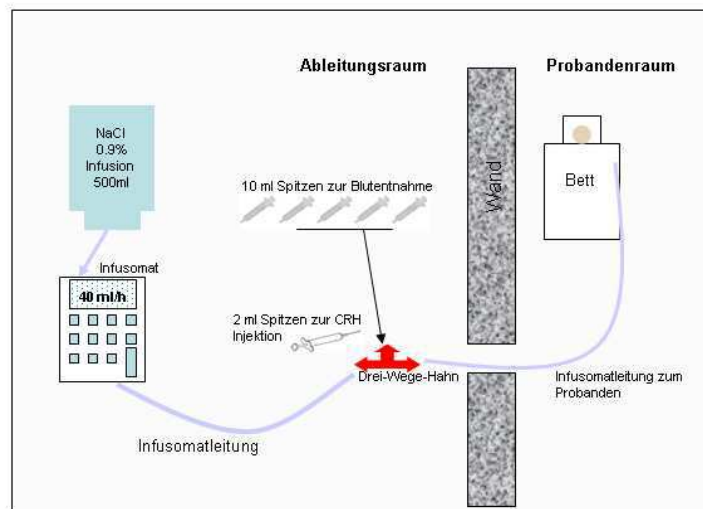


Abbildung 11: Schematische Darstellung des Dex/CRH Testaufbaus (modifiziert nach J. Huber 2009 nicht publizierte technische Dokumentation des Dex/CRH Tests)

2.3.4.1 Datenaufnahme

Am Vortag der Untersuchung nehmen die Probanden um 23 Uhr 1,5 mg Dexamethason (Jenapharm®, mibe GmbH, Brehna) in Eigenregie oral als Testvorbereitung ein. Am darauffolgenden Tag werden die Probanden nach einer kurzen Aufklärung über den Experimentablauf angewiesen, sich in ein Bett zu legen und zur Ruhe zu kommen, ohne dabei einzuschlafen. Es wird anschließend ein intravenöser Zugang gelegt und mit einer durch einen Infusomaten kontinuierlich verabreichten Kochsalzlösung (0,9%) offen gehalten. Die Blutentnahmen (jeweils 5 ml), die im Verlauf des Dex/CRH-Tests entnommen und in vorbereitete EDTA/Aprotinin Röhrchen transferiert werden, erfolgen ebenso wie die Injektion über diesen Zugang.

Die erste Blutentnahme erfolgt um 15:00 Uhr, kurz vor der CRH Injektion um 15:02 Uhr. Mit dieser ersten Blutprobe werden die durch Dexamethason supprimierten Konzentrationen des ACTH- und Cortisol-Plasmagehalts gemessen. Indirekt wird also mit dieser Blutprobe die Einnahme des Dexamethasons am Vortag überprüft, da bei Gesunden eine vollständige Suppression erwartet werden kann. Nach der Bolusinjektion von 100 µg CRH (Ferring®, Kiel, Deutschland) gelöst in 1 ml NaCl (0,9%) und dem Protokollieren der möglichen auftretenden Nebenwirkungen, folgen weitere vier Blutentnahmen, die ab 15:30 Uhr im Abstand

von 15 Minuten durchgeführt werden, um die Ausschüttung von ACTH und Kortisol über die Zeit zu kontrollieren. Alle Blutproben werden nach Entnahme sofort bei 4 °C zentrifugiert (4000 U/min für 7 Minuten). Anschließend wird vom Serumüberstand ca. 1500 µl manuell entnommen und bis zu den Laboruntersuchungen bei -20°C eingefroren.

2.3.4.2 Datenauswertung

Die Datenauswertung wurde im chemischen Labor des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie durchgeführt. Die Messungen der Plasmakonzentrationen von ACTH und Kortisol erfolgten über Radioimmunoassay-Kits (DRG Instruments GmbH, Marburg, Germany). Die damit ermittelten Plasmakonzentrationen der beiden Hormone stellen die individuelle Antwort der Probanden auf die CRH-Stimulation dar. Zur weiteren Analyse wurde die Area-under-the-curve [AUC]²⁷ für ACTH (ACTH_{AUC}) und Kortisol (Kortisol_{AUC}) zwischen erster und letzter Blutentnahme mit folgender Formel berechnet (cort bezeichnet die Blutabnahme, d. h. cort1 steht für die erste Blutabnahme während des Dex/CRH-Tests (siehe Abbildung 4 für Zeitpunkte der Abnahmen):

$$AUC = 7.5 * [cort1+cort5+2*((cort1+cort2)/2+cort2+cort3+cort4)]$$

2.3.5 Endokrinologische Zusatztestung

Die endokrinologische Zusatztestung wurde exemplarisch an vier zufällig ausgewählten Probanden an einem zusätzlichen Messtag durchgeführt. Die Messung fand mit dem gleichen Experimentaufbau, wie für den Dex/CRH-Test abgebildet, statt. Die Probanden wurden diesmal ab 15:15 Uhr im Probandenraum aufgefordert, auf dem Rücken liegend zur Ruhe zu kommen. Anschließend wurde ein venöser Zugang gelegt. Die ersten beiden Blutentnahmen erfolgten um 15:48 und 15:58 Uhr, um die basale ACTH- und Kortisol-Konzentration der Probanden, kurz vor der Bolus-Kortisol-Injektion (20 mg gelöst in 5 ml NaCl 0,9%) um 16:00 Uhr zu bestimmen. Im Abstand von zunächst fünf Minuten wurden danach fünf weitere Blutentnahmen durchgeführt. Anschließend folgten vier weitere Blutentnahmen mit einem zeitlichen Abstand von jeweils zehn Minuten. Die letzte Blutentnahme erfolgt um 17:02 Uhr, womit der Untersuchungszeitrahmen der kombinierten EEG/fMRT-Messungen am Tag 1 und 3 abgedeckt war. Zeitgleich zu jeder Blutentnahme wurden Puls, Atemfrequenz und Blutdruck bestimmt, um einen möglichen Einfluss der Kortisolinjektion auf diese Parameter zu untersuchen.

²⁷ Area-under-the-curve (AUC) wird die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve eines Stoffes im Blut genannt. AUC ist damit ein Maß für die Bioverfügbarkeit eines Stoffes (Forth et al., 2009).

2.3.6 Fragebögen

Während der Voruntersuchung wurden vier Fragebögen zum Ausschluss von akut vorliegenden psychiatrischen Auffälligkeiten bzw. zur Bestimmung von Persönlichkeitsmerkmalen erhoben. Des Weiteren wurden die Ergebnisse im Rahmen der Datenanalyse der endokrinologischen Testung mit den dort ermittelten ACTH- und Kortisolwerten der einzelnen Probanden korreliert, um einen möglichen Einfluss zu untersuchen.

Das Beck-Depressions-Inventar (BDI) wurde zum Ausschluss einer aktuellen depressiven Stimmungslage erhoben (Beck und Steer, 1984). Der BDI besteht aus 21 Aussagen, die typisch depressive Symptome beschreiben. Die Skalierung ist in jeweils vier zunehmenden Beeinträchtigungen eingeteilt. Die Probanden wählen aus diesen vier Antwortmöglichkeiten diejenige, die bezogen auf die letzten Wochen am besten ihrem derzeitigen Zustand entspricht (Hautzinger et al., 1995).

Das Spielbergers State-Trait-Anxiety-Inventar (STAI, 1970) erlaubt die Messung von aktueller und habitueller Angst (Spielberger et al., 1970). Die beiden Fragebögen bestehen aus jeweils 20 Fragen. Der State-Fragebogen enthält Fragen zur aktuellen Ängstlichkeit, wobei 10 Fragen in Richtung Angst formuliert sind, die anderen 10 Fragen stehen für Angstfreiheit, die der Proband mit einer vierstufigen Intensitätsskala beantworten soll. Der Trait-Fragebogen enthält Fragen zur allgemeinen Ängstlichkeit, die der Proband wiederum mit einer vierstufigen Häufigkeitsskala beantwortet (Laux et al., 1981).

Das Eysencks-Persönlichkeits-Inventar (Eysenck und Eysenck, 1975) wurde in gekürzter Form (EPQ-RK) erhoben, um Persönlichkeitsmerkmale der Probanden (im Wesentlichen die beiden Hauptdimensionen der Persönlichkeit nach Eysenck: Extraversion und Neurotizismus) zu testen. In den insgesamt 50 Fragen zur Persönlichkeit sind auch Fragen beinhaltet, die eine Lügenskala darstellen. Die Fragen werden jeweils mit Ja oder Nein beantwortet.

In der Big Five Skala (Borkenau und Ostendorf, 2008) werden in Erweiterung zum Eysencks-Persönlichkeits-Inventar fünf Persönlichkeitsmerkmale postuliert. Zusätzlich zur Extraversion und zum Neurotizismus kommen noch Offenheit für Erfahrungen, Verträglichkeit und Gewissenhaftigkeit hinzu. In diesem Test gibt es 44 Feststellungen, die mit einer fünfstufigen Intensitätsskala beantwortet werden.

2.4 Analysen

In diesem Kapitel wird beschrieben, welche Analysen für die Beantwortung der jeweiligen Studienfrage benutzt wurden. Des Weiteren werden die schrittweise Prozessierung der fMRT-Daten zur Beantwortung und Hypothesentestung dargestellt.

2.4.1 Fragestellung I

Sagt die Aktivität der Ruhenetzwerke des Gehirns das Ergebnis des Dex/CRH-Tests, als sensitiver endokrinologischer „Stresstest“, vorher?

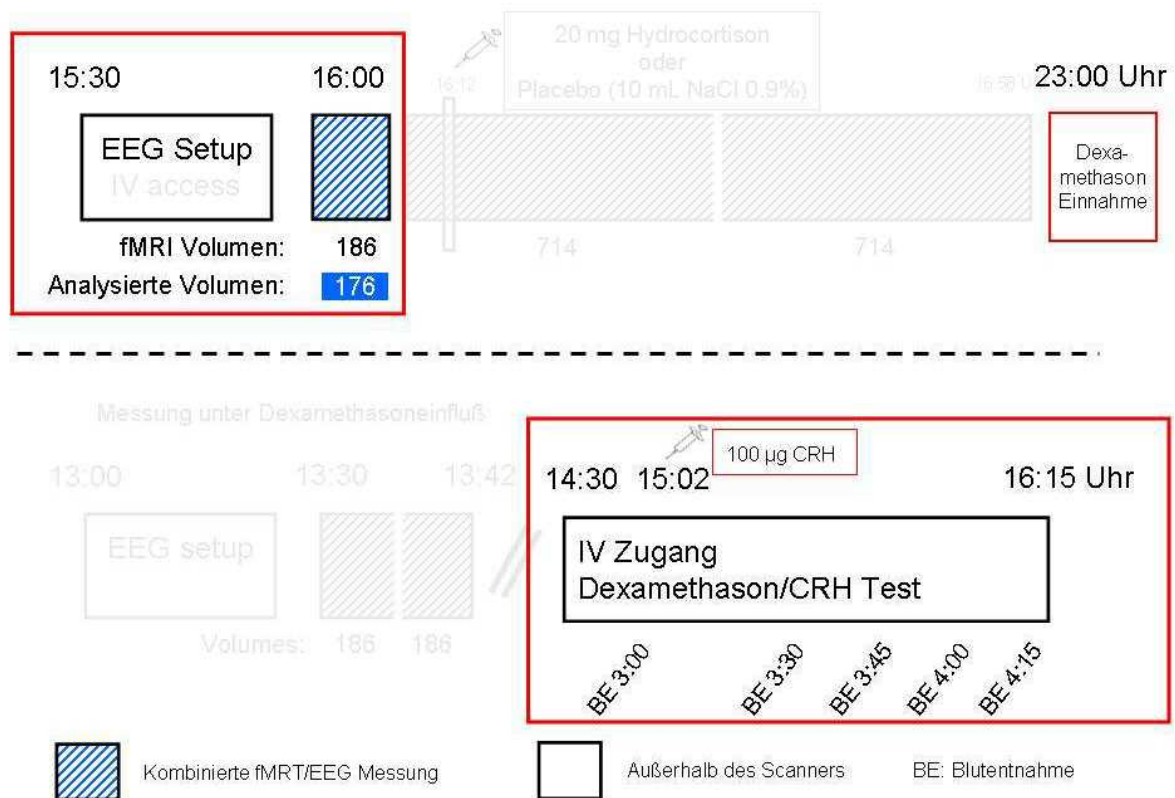


Abbildung 12: Für Fragestellung I relevante Abschnitte des Studiendesigns. Oben: Kombinierte EEG/fMRT Ruhenetzwerk-Messung und Dexamethasoneinnahme am Abend. **Unten:** Dex/CRH Test. Verwendet wurden die Kortisol und ACTH Ergebnisse (als AUC) im zeitlichen Verlauf nach CRH Stimulation.

Folgende Analysen wurden zur Beantwortung dieser Frage durchgeführt:

2.4.1.1 Vigilanz Überprüfung

Die EEG-Daten für die Zeitabschnitte (siehe Abbildung 12) der Messtermine 1 und 3 wurden auf Vigilanzschwankungen innerhalb eines Zeitfensters und auf signifikante Unterschiede der Vigilanz zwischen den Zeitfenstern der beiden Messtermine untersucht. Dazu wurde die Zeit in Sekunden berechnet, die die Probanden während der analysierten 6 Minuten Zeitfenster wach waren. Der Mittelwert über alle 20 Probanden der beiden Messtermine wurde anschließend mit einem T-Test für abhängige Stichproben auf signifikante Unterschiede getestet.

2.4.1.2 Generierung der seedbasierten Ruhenetzwerke

Eine seedbasierte funktionelle Korrelationsanalyse wurde für die in Abbildung 12 markierten 6-Minuten-Zeitfenster (vor der jeweiligen Intervention) der Messtermine 1 und 3 durchgeführt. Die Zeitspanne des analysierten Fensters beruht dabei auf der üblichen Zeitspanne einer Ruhenetzwerkmessung.

Dazu wurden aus den wie zuvor beschrieben präprozessierten fMRT-Daten zunächst die Zeitreihen von insgesamt 15 Seedregionen extrahiert (Übersicht der Seeds siehe Abbildung 13). Die Zeitreihen wurden dabei als Mittelwertsignal über alle Voxel innerhalb der jeweiligen Seed-Region berechnet und unter Verwendung eines in IDL geschriebenen Skripts pro Proband und Zeitfenster extrahiert.

Die meisten der 15 folgenden Regionen waren zuvor in der Literatur in Zusammenhang mit der kortikalen Stressregulation gebracht worden und aus diesem Grund in die Analyse eingeflossen (siehe dazu Einleitung): der Hippokampus ohne Area entorhinalis, die Amygdala, vier Subregionen des anterioren Gyrus cinguli, sowie der mediale präfrontale Kortex. Für die genannten Regionen wurden jeweils die linke und rechte Hemisphäre getrennt berücksichtigt. Als Kontrollregion, für die keine besondere Rolle in der kortikalen Stressregulation hypothesisiert wurde, diente ein Seed im posterioren Gyrus cinguli. Die Kontrollregion wurde mitanalysiert um auszuschließen, dass mögliche Ergebnisse und Zusammenhänge auf eine generelle Fluktuationsschwankung im Gehirn über die Zeit basieren (Kiem et al. im Review). Bei Definition der Seed-Regionen in den fMRT-Daten wurden unterschiedliche Masken verwendet. Die Hippokampus und Amygdala Seeds wurden unter Verwendung von zytoarchitektonischen Wahrscheinlichkeitskarten (Amunts et al., 2005) und der „maximal probability map“-Technik von Eickhoff (2005) erstellt. Als Vorlage für die vier Subregionen des ACC diente die AAL Methode von Tzouri-Mazoyer et al. (2002) unter Verwendung der von Frodel et al. (2008a) präsentierten Orientierungspunkten für ACC Untergruppen Einteilungen. Zur Definition des mPFC-Areals wurde wiederum die AAL Toolbox verwendet. Die Kontrollregion im Gyrus cinguli posterior wurde anhand von einer arbeitsgruppeninternen binären Maske (Andrade et al., 2011; Sämann et al., 2011), die auf einem unabhängigen Probandenpool basiert, definiert.

Für jede dieser Seedregionen wurde die Zeitreihe der Ruhedaten von Messtermin 1 und 3 pro Proband extrahiert. Während der FIRST LEVEL Analysen wurden durch Korrelation mit allen Voxeln im Gehirn, Autokorrelationskarten für die jeweilige Seedregion produziert (siehe Abbildung 19 im Ergebnisteil), wobei die Karten der normalisierten Betakoeffizienten der beiden Messtermine pro Proband gemittelt wurden, um eine für den Probanden möglichst repräsentatives Netzwerk zu erhalten. Dies führte zu einer möglichst stabilen Darstellung, ohne tagesabhängige Fluktuationdifferenzen, der individuellen seedbasierten Ruhenetzwerke.

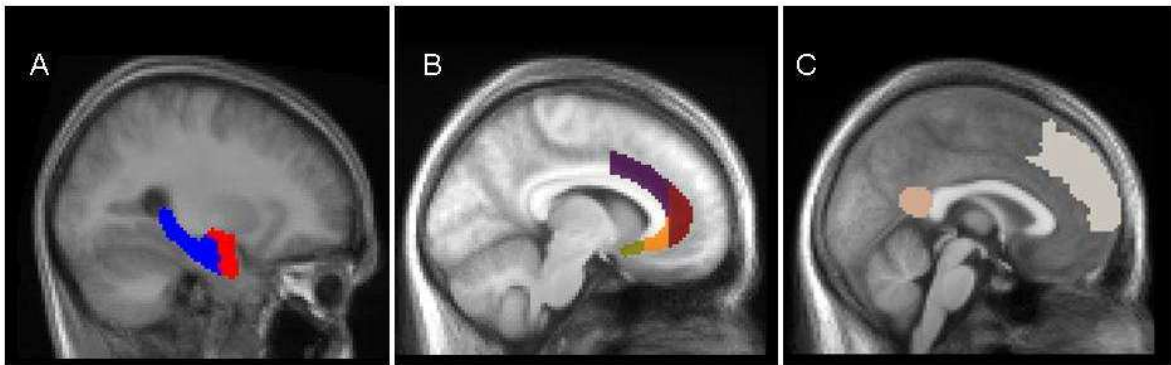


Abbildung 13: Seedregionen die für die Analyse der seedbasierten Netzwerke und der Analysen der Interseed-Konnektivität verwendet wurden (nur die linksseitigen sind gezeigt).

2.4.1.3 Korrelation der funktionellen Konnektivität mit dem Ergebnis des Dex/CRH-Tests

Um zu untersuchen, ob die inter-individuellen Unterschiede der funktionellen Konnektivität prädiktive Aussagen zur neuroendokrinen Antwort des Organismus erlauben, wurden in den Gruppenanalysen (SECOND LEVEL Analysen) die im FIRST LEVEL (Analysen je Proband) entstandenen individuellen seedbasierten Netzwerkkarten mit den $\text{Kortisol}_{\text{AUC}}$ - und ACTH_{AUC} -Werten aus dem Dex/CRH-Test als Regressor und der gemittelten Seed-spezifischen Konnektivitätskarte als abhängige Variable gruppenübergreifend korreliert. Die resultierenden Ergebniskluster wurden mit einer Schwelle von $p_{\text{voxel}} < 0,005$ und „family wise error“ (FWE) korrigiertem Cluster p-Wert ($p_{\text{cluster.FWE}}$ signifikant ab 0,05) unter zusätzlicher Berücksichtigung der „nonstationary smoothness“ (Hayasaka et al., 2004) berechnet. Dabei wurde das zu analysierende Areal auf die zuvor berechneten normativen Netzwerke (siehe Abbildung 19) der entsprechenden Seedregionen (für alle Probanden, einseitiger T-Test, $p_{\text{voxel.FWE}} < 10^{-4}$) begrenzt.

2.4.1.4 Kreuzkorrelation der funktionellen Konnektivität zwischen den Seedregionen mit dem Ergebnis des Dex/CRH-Tests

Um das Vorhersagepotential der seedbasierten Netzwerke von jenen Effekten zu trennen, die sich durch Konnektivitäten zwischen den Seedregionen ergeben (interseed connectivity), wurden zusätzliche Kreuzkorrelationen zwischen den einzelnen Seedzeitreihen berechnet. Dazu wurde zunächst der Pearsonkorrelationskoeffizient zwischen den 15 Seedzeitreihen eines Probanden für die beiden Messtermine getrennt gebildet. Anschließend wurde für jeden

Koeffizienten eine Fishers z' Transformation²⁸ durchgeführt und aus beiden z -Werten der Messtermine der Durchschnittswert pro Proband berechnet. Die daraus resultierenden Kreuzkorrelationsmatrizen wurden probandenübergreifend auf ihre Wechselbeziehung mit den Kortisol_{AUC} und ACTH_{AUC}-Werten getestet. Eine multiple Testkorrektur mit der „approximierte false discovery rate“, kurz AFDR-Methode (korrigierter Alpha-Wert für 15 Seedregionen $\sim 0,0048$) wurde durchgeführt.

Für die nominal signifikanten Ergebnisse der Amygdala und des Hippokampus wurden zusätzliche Kreuzkorrelationen der Zeitreihen der jeweiligen Subregionen gerechnet. Das waren für den Hippokampus die Zeitreihen des Subiculum, des Cornu ammonis und des Gyrus dentatus sowie für die Amygdala die Zeitreihen aus der vorderen Amygdala (superficialis), der medialen Amygdala (centro medialis) und der basolateralen Amygdala (basolateralis). Die Definition der Subregionen erfolgte wiederum unter Verwendung der zytoarchitektonischen Wahrscheinlichkeitskarten (Amunts et al., 2005) und der „maximal probability map“-Funktion der Anatomy-Toolbox in SPM8 (Eickhoff et al., 2005). Die Anzahl der Seedregionen erhöhte sich hierbei auf 23, was eine Anpassung der Schwelle für multiple Testung nach AFDR-Methode auf $\sim 0,0041$ beinhaltete.

²⁸ Die Stichprobenverteilung von Pearsons Korrelationskoeffizient r folgt nicht der Normalverteilung. Die Fisher- z -Transformation wandelt Pearsons r in eine normal verteilte Variable z' um (2012a).

2.4.2 Fragestellung II

Kartierung und Quantifizierung der funktionellen Konnektivitätsänderungen der Ruhenetzwerke unter placebokontrolliertem Kortisoleinfluss sowie durch experimentelle Modulation des Kortisolmilieus. Hierbei sollen sowohl Effekte einer intravenösen Kortisol-Applikation, als auch die Effekte durch Dexamethason induzierte Kortisolsuppression untersucht werden.

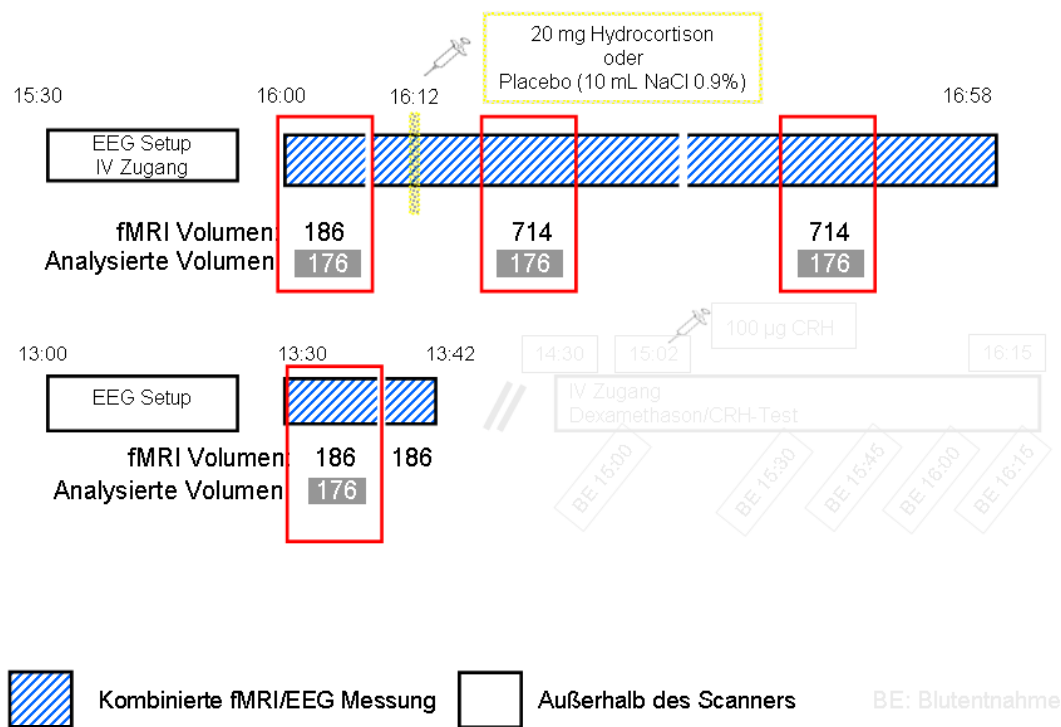


Abbildung 14: Für Fragestellung II relevante Abschnitte des Studiendesigns. Oben: Kombinierte EEG/fMRT Ruhenetzwerk-Messung mit Interventionen (Kortisol oder Placebo Injektion). **Unten:** Kombinierte EEG/fMRT Ruhenetzwerk-Messung nach Dexamethasoneinnahme. Insgesamt wurden 7 6-Minuten-Zeitfenster analysiert: Jeweils (für die Kortisol und Placebo Intervention) eines vor der Intervention (PRE), eines gleich nach der Intervention (EARLY) und ein Zeitfenster 30 Minuten nach der Intervention (LATE), sowie eine 6-Minuten-Messung am Tag nach Dexamethasoneinnahme (DEX)

Folgende Analysen wurden für die Untersuchung der Änderungen der Konnektivität durchgeführt:

2.4.2.1 Vigilanzquantifizierung

Die EEG-Daten für die relevanten Zeitabschnitte (siehe Abbildung 14) wurden auf Vigilanzschwankungen innerhalb einer Bedingung und auf signifikante Unterschiede zwischen den Zeitfenstern der Messtermine untersucht. Dazu wurde die Zeit in Sekunden berechnet, die die Probanden während der jeweiligen analysierten 6 Minuten Zeitfenster wach waren. Um die Normalverteilung der Werte zu prüfen wurde zunächst der Shapiro-Wilk-Test durchgeführt.

Anschließend wurden die Mittelwerte der Probanden pro Messzeitpunkt mit einem nicht-parametrischen Test (Wilcoxon-Test) für abhängige Stichproben paarweise gegeneinander auf signifikante Unterschiede hin getestet. Daran anschließend wurden, wiederum mit einem Wilcoxon-Test, die Mittelwerte der Zeitfenster des gesamten Probandenpools pro Messzeitpunkt der akuten Interventionen (Placebo und Kortisol) unter Berücksichtigung deren Standardabweichung verglichen.

Der Einfluss der Vigilanz auf die Ergebnisse der seedbasierten Analysen (siehe Punkt 2.4.2.2) wurde exemplarisch für den rechten mPFC untersucht. Dazu wurde zum einen der Effekt der in der Analyse verwendeten Kovariate (EEG-Regressor) selbst auf die funktionelle Konnektivität, für alle drei Zeitpunkte (PRE, EARLY und LATE), ermittelt. Zum anderen wurde die Größe des Einflusses untersucht, indem die Analysen für die Beispielregion, der rechte mPFC, einmal mit und einmal ohne Einschluss des Vigilanzregressors durchgeführt wurden.

2.4.2.2 Analysen zu seedbasierten Netzwerken

Für die seedbasierte Analyse der unterschiedlichen pharmakologischen Effekte wurde für die in Abbildung 14 markierten 6-Minuten-Zeitfenster die Zeitreihen für die unter Punkt 4.1.2 beschriebenen Seedregionen extrahiert. Zusätzlich zu diesen 15 Seedregionen kamen noch die drei Subregionen des Hippokampus (Cornu Ammonis, Subiculum und Gyrus dentatus) für die linke und rechte Hemisphere dazu. Die Gesamtzahl der Seeds erhöht sich für den zweiten Teil der Untersuchung auf insgesamt 21 Seedregionen. Die Zeitreihen der Seedregionen wurden dabei, wiederum als Mittelwertssignal über alle Voxel, innerhalb der jeweiligen Seed-Region berechnet und unter Verwendung eines in IDL geschriebenen Skripts pro Proband und Zeitfenster extrahiert.

Die Selektion der Zeitfenster basierte dabei auf zuvor veröffentlichte Ergebnisse zum zeitlichen Verlauf der zu erwartenden Effekte einer Kortisolinjektion. Das EARLY Zeitfenster unmittelbar nach der Kortisolinjektion beruht auf dem Ergebnis, dass nicht-genomische Effekte sowohl in Tiermodellen als auch Humanstudien innerhalb von Sekunden und Minuten nach Glucocorticoidgabe auftreten (Ferris und Stolberg, 2010; Groeneweg et al., 2011; Makara und Haller, 2001). Für das LATE Zeitfenster wurde der Bericht der bis dahin einzigen veröffentlichten fMRT-Studie (Lovallo et al., 2010) über zentrale Effekte einer einmaligen Cortisolgabe nach 30 Minuten als Grundlage genommen. Das PRE Zeitfenster vor der jeweiligen Intervention wurde als Referenz zu den Manipulationen des Kortisolmilieus und für den zeitlichen Verlauf analysiert. Zusätzlich wurde ein Zeitfenster des dazu unabhängigen zweiten Messtermins unter Dexamethasoneinnahme (DEX) in die Analysen eingeschlossen.

Während der FIRST LEVEL Analysen wurden im Anschluss an die Zeitreihenextraktion, durch Korrelation mit allen Voxeln im Gehirn, Autokorrelationskarten für den jeweiligen Seed pro Intervention und Zeitfenster gebildet. Anschließend wurden in den SECOND LEVEL Analysen (Gruppenanalysen)

zum einen die Änderungen der funktionellen Konnektivität in Abhängigkeit des Kortisolmilieus untersucht. Dafür wurde eine einfaktorielle ANOVA unter Berücksichtigung der Vigilanz (EEG-Regressor aus den ermittelten Vigilanzwerten pro Zeitpunkt) verwendet. Zum anderen wurde der Interventionseffekt von Kortisol im Vergleich zu Placebo auf die funktionelle Konnektivität mit der Zeit mit einer zweifaktoriell ANOVA mit wiederholten Messungen (Faktor Intervention, 2 Stufen; Faktor Zeit, 3 Stufen) untersucht.

Für beide Ansätze wurde eine Cluster basierte multiple Testkorrektur mit korrigiertem Cluster p-Wert ($p_{\text{cluster.FWE}}$ signifikant ab 0,05), unter zusätzlicher Berücksichtigung der „nonstationary smoothness“ (Hayasaka et al., 2004) angewandt. Dabei wurde das zu analysierende Areal auf die zuvor berechneten und in Abschnitt 2.4.1.2 vorgestellten normativen Netzwerke der entsprechenden Seedregionen begrenzt.

2.4.2.3 Kreuzkorrelationsanalysen für Seedregionen

Um den Effekt der Kortisol/Placebo-Intervention der seedbasierten Netzwerke von jenen Effekten zu trennen, die sich durch Konnektivitäten zwischen den Seedregionen ergeben (Interseed-Konnektivität), wurden Kreuzkorrelationen zwischen den einzelnen 21 Seedzeitreihen berechnet. Dazu wurde zunächst der Pearson-Korrelationskoeffizient zwischen diesen 21 Zeitreihen eines Probanden, pro Zeitfenster getrennt, gebildet.

Die daraus resultierenden Kreuzkorrelationsmatrizen wurden probandenübergreifend mittels verschiedener ANOVA untersucht. Um den Intervention (Kortisol und Placebo) mal Zeit (PRE, EARLY, LATE) Effekt auf die Interseed-Konnektivität zu untersuchen wurde eine ANOVA mit Messwiederholung durchgeführt. Anschließend wurden noch der Haupteffekt Intervention bzw. Zeit in je einer ANOVA getrennt untersucht. Die Signifikanzschwelle für die abgefragten Effekte wurde bei $p < 0,05$ festgelegt. Zusätzlich wurde noch eine Korrektur für multiple Testung unter Verwendung der AFDR (korrigierter Alpha-Wert für 21 Seedregionen $\sim 0,0042$) durchgeführt.

2.4.2.4 Kreuzkorrelationsanalysen für AAL Regionen

Um die Effekte der Kortisol/Placebo-Intervention der Interseed-Konnektivität explorativ auf das gesamte Gehirn zu erweitern, wurden Kreuzkorrelationen über 90 AAL-Regionen berechnet. Der AAL-Atlas teilt das humane Gehirn in 108 Areale auf (Tzourio-Mazoyer et al., 2002). Es wurden in der vorliegenden Arbeit pro Proband und Zeitfenster von 90 der 108 Gehirnareale (Areale des Cerebellum wurden nicht verwendet, da wegen technischer Limitation bei der Datenakquisition die Aufnahme dieser Region nicht immer vollständig abgedeckt werden konnte) der Pearsonkorrelationskoeffizient zwischen den einzelnen Zeitreihen der Regionen berechnet. Die daraus resultierenden Kreuzkorrelationsmatrizen wurden, um den Effekt Intervention \times Zeit zu untersuchen, mit einer ANOVA mit Messwiederholung getestet.

Zusätzlich wurden auch hier der Haupteffekt Intervention bzw. Zeit in je einer ANOVA getrennt untersucht. Die Signifikanzschelle für die abgefragten F-Kontraste wurde auf $p < 0,005$ gesetzt. Die anschließend durchgeführte multiple Testkorrektur wurde hierbei an 90 Regionen (entspricht 4005 Tests) mit AFDR $\sim 0,0028$ angepasst.

2.4.2.5 Functional Connectivity Density Mapping (FCDM)

Die Analyse der FCDM wurde in Anlehnung an Tomasi und Volkow (2010a; 2011a) durchgeführt. Deshalb wurde bei dieser Art der Datenanalyse für die räumliche Normalisierung der Daten, während der Präprozessierung, eine standardisierte EPI-Schablone mit einer Interpolation von $3 \times 3 \times 3 \text{ mm}^3$ gewählt. Diese erweiterte Voxelgröße war nötig, um die Berechnungszeit der Voxel-basierten Korrelation, die alle funktionellen Konnektivitäten innerhalb der grauen Substanz, basierend auf der Idee der Graph Theorie Methode (Bullmore und Sporns, 2009; Bullmore und Bassett, 2011) untersucht, im Rahmen zu halten. Analysiert wurden die unter Punkt 4.1.2 beschriebenen sieben Zeitfenster der seedbasierten Analyse.

Während den FIRST LEVEL Analysen wurden zunächst individuelle Schablonen für die graue und weisse Substanz pro Proband berechnet. Dazu wurden die „unified Segmentation“-Funktion in SPM8 (Ashburner und Friston, 2005) verwendet. Die daraus resultierenden Schablonen wurden zusammen mit einer sogenannte „Betmaske“, einer Schablone, die Gehirngewebe von Gewebe das nicht dem Gehirn zugeordnet wird getrennt verrechnet. Anschließend wurde mit einem arbeitsgruppeninternen Matlab-Skript die Korrelationskoeffizienten für jedes Voxel der grauen Substanz pro Proband und Zeitfenster berechnet und nach einer Fishers z' Transformation²⁹ in einer Kreuzkorrelationsmatrix gespeichert.

Die daraus resultierenden Karten der Konnektivitätsdichte (Modelldarstellung siehe Abbildung 15), über das ganze Gehirn pro Proband und Zeitfenster, stellten die Basis für die weiterführende SECOND LEVEL Analysen dar.

Untersucht wurden die Änderungen der Konnektivitätsdichte im Gehirn: a) in Abhängigkeit des Kortisolmilieus b) in Abhängigkeit der Kortisol/Placebo Intervention. Um für die Unterschiede der funktionellen Konnektivitätsdichte zwischen den Probanden zu korrigieren, wurden die Karten der Konnektivitätsdichte pro Proband und Zeitpunkt mit der Smoothing-Funktion in SPM8 mit einer Interpolation von $6 \times 6 \times 6 \text{ mm}^3$ geglättet.

Vor den SECOND LEVEL Analysen wurde eine „Proof-of-Concept“-Analyse durchgeführt. Diese bestand darin, aus allen geglätteten Karten der Konnektivitätsdichte (alle Probanden und alle Zeitpunkte, daraus ergibt sich ein $N = 160$) einen Mittelwert zu bilden. Anschließend wurde visuell überprüft, ob die

²⁹ Die Stichprobenverteilung von Pearsons Korrelationskoeffizient r folgt nicht der Normalverteilung. Die Fisher-z-Transformation wandelt Pearsons r in eine normal verteilte Variable z' um (2012b).

Berechnungen der Karten der Konnektivitätsdichte korrekt abgelaufen waren (siehe Abbildung 16 für das Mittelwertsbild aller 160 Karten).

In den anschließenden SECOND LEVEL Analysen wurden, ähnlich der Analysemodelle der seedbasierten Analysen, zum einen unter Verwendung einer einfaktoriellen ANOVA die unterschiedlichen Einflüsse des Kortisolmilieus auf die funktionelle Konnektivitätsdichte des Gehirns pro Zeitpunkt getestet. Zum anderen wurde unter Verwendung einer zweifaktoriellen ANOVA mit Messwiederholung der Effekt der Kortisolintervention im Vergleich zur Placebointervention auf die Konnektivitätsdichte untersucht. Für beide Modelle wurde eine Cluster basierte multiple Testkorrektur mit korrigiertem Cluster p-Wert ($p_{\text{cluster.FWE}}$ signifikant $< 0,05$) unter zusätzlicher Berücksichtigung der „nonstationary smoothness“ (Hayasaka et al., 2004) benutzt.

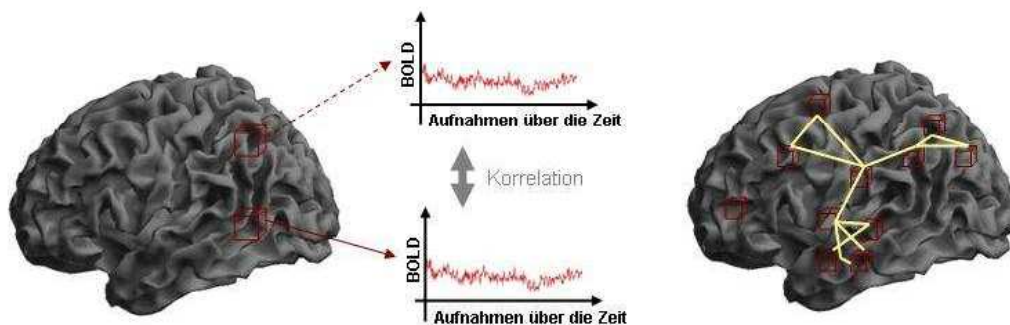


Abbildung 15: Korrelation der Zeitreihen einzelner Voxel resultieren in Konnektivitätskarten über das Gehirn. Links: Extraktion der Zeitreihen zweier Voxel, **Mitte:** Korrelation dieser Zeitreihen, **Rechts:** Resultierende Konnektivitäts-Hubs* im Gehirn (modifiziert nach van den Heuvel und Pol (2010a)).

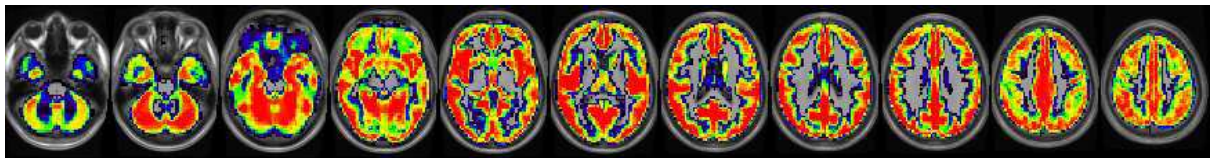


Abbildung 16: Konnektivitätsdichteverteilung. Für die Darstellung wurden 160 FCDM-Karten gemittelt, die jeweils aus 6 Minuten Ruhe-fMRT Zeitreihen berechnet wurden. Pro Voxel wurde die mittlere Konnektivität zu allen anderen Voxeln berechnet. Rote Areale weisen eine hohe Konnektivitätsdichte auf, blaue Areale eine niedrige.

³⁰ * Konnektivitäts-Hubs sind Regionen im Gehirn die besonders viele Interaktionen zu anderen haben, d. h. sie haben eine hohe dichte an funktionellen Konnektivitäten (Tomasi und Volkow, 2011b).

3. Ergebnisse

3.1 Ergebnisse des Dex/CRH-Tests

Die Analyse der Blutabnahme vor der CRH-Stimulation in den mit Dexamethason vorbehandelten Probanden zeigte deutlich suppressierte Werte für Kortisol und ACTH bei allen Probanden.

Das über die Gruppe gemittelte Kortisolniveau um 15 Uhr betrug $10,1 \pm 2,5$ ng/ml, was den Rückschluss auf eine korrekte Einnahme der Dexamethasontabletten am Vorabend erlaubte. Die Plasmakonzentrationen von ACTH und Kortisol quantifiziert durch die AUC^{31} nach CRH-Stimulation (Mittelwerte: $ACTH_{AUC} = 764,7 \pm 482,4$ pg/ml und $Kortisol_{AUC} = 1610,6 \pm 1412,7$ ng/ml) lagen innerhalb des erwarteten normalen Spektrums für gesunde junge männliche Erwachsene.

Der Vergleich der Mittelwerte mit einer von dieser Studie unabhängigen größeren Probandenstichprobe (N = 75) aus dem MPI für Psychiatrie zeigte keine signifikanten Unterschiede (Kortisol: $p = 0,617$, ACTH: $p = 0,538$). Die Konzentrationswerte der Hormone über die Zeit zeigen dennoch eine deutliche interindividuelle Streuung die in Abbildung 17 dargestellt ist.

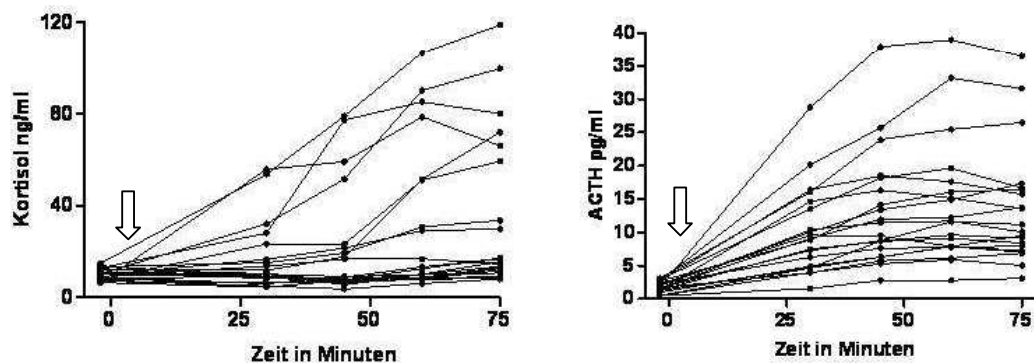


Abbildung 17: Interindividuelle Varianz der Kortisol und ACTH Werte vor und nach der CRH Stimulation. Die Punkte markieren die Zeitpunkte der Blutentnahmen, die Pfeile den Zeitpunkt der CRH-Injektion.

³¹ Area under the curve (AUC) bezeichnet die Fläche unter der Zeit-Konzentrations-Kurve einer Substanz.

3.2 Effekte von Kortisol auf Blutdruck und Puls

Die Überprüfung der möglichen Effekte einer Kortisolinjektion auf das Kardiovaskularsystem erfolgte durch ein separates Experiment. Die akute intravenöse Einmalgabe von 20 mg Kortisol scheint Puls, Blutdruck und Sauerstoffsättigung nicht wesentlich zu beeinflussen. Eine grafische Darstellung dieser Parameter über die Zeit für die einzelnen Probanden ist in Abbildung 18 gezeigt. Die Daten für die Sauerstoffsättigung sind nicht grafisch gezeigt.

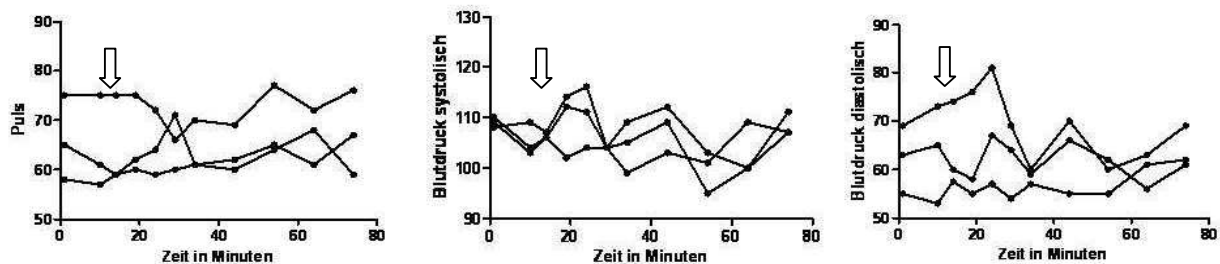


Abbildung 18: Effekte von 20 mg Kortisol auf den Puls (links) und Blutdruck (mitte: systolisch/ rechts: diastolisch). Gezeigt sind die Messungen von drei Probanden, die vor der Injektion 30 Minuten ruhig im Liegen warteten. Die Pfeile markieren den Zeitpunkt der Kortisolinjektion (12 Minuten nach der ersten Blutentnahme).

3.3 Fragebögen

Zum Untersuchungszeitpunkt vorliegende Symptome einer Depression oder einer aktuellen oder länger bestehenden Ängstlichkeit oder sonstiger Persönlichkeitsauffälligkeiten wurden durch die Selbstbefragungsbögen untersucht. Dieses Vorgehen diene vor allem dem Ausschluss einer aktuellen depressiven Symptomatik, die mit einer HPA-Achsen-Störung einhergehen könnte. Bei der Auswertung des BDI ($2,23 \pm 2,29$) und des STAI (X1: $31,70 \pm 6,08$; X2: $29,60 \pm 8,75$) zeigte sich, dass die Mittelwerte innerhalb von für gesunde Probanden als normal angesehene Werte lagen. Ebenso wurden keine von der Norm abweichenden Werte für die Persönlichkeitsmerkmale Psychotizismus ($3,42 \pm 2,83$), Extraversion ($8,73 \pm 3,65$), Neurotizismus ($1,30 \pm 1,17$) gefunden. Ebenso ergaben sich normale Werte für die Merkmale Extraversion ($3,70 \pm 0,69$), Neurotizismus ($2,13 \pm 0,49$), Verträglichkeit ($3,80 \pm 0,54$), Gewissenhaftigkeit ($3,80 \pm 0,68$) und Offenheit für Erfahrungen ($3,73 \pm 0,45$), die mit dem Big-5-Fragebogen ermittelt wurden.

Die Korrelation dieser Merkmale mit den Kortisolwerten³² des Dex/CRH-Test ergab ein einziges signifikantes Ergebnis für die Korrelation von Kortisol und BDI ($r = 0,56$; $p = 0,010$, siehe Tabelle 1). Im Spearman-Korrelationstest war das Ergebnis hingegen weniger deutlich ($\rho = 0,40$; $p = 0,084$). Ein Trend ließ sich

³² Die Korrelationen wurden der Übersicht wegen auf die Kortisolwerte beschränkt, da die Kortisol- und ACTH Werte hoch-signifikant korrelieren ($r = 0,782$ $p < 0,001$) und Kortisol das Hauptstresshormon im Körper ist.

auch aus der Korrelation von Kortisol mit der Extraversion ablesen (EPQ-RK: $r = 0,40$; $p = 0,082$ bzw. Big Five: $r = 0,44$; $p = 0,055$). Alle anderen Korrelationen zwischen Persönlichkeitsmerkmalen und Hormonwerten waren nicht signifikant.

Fragebogen	Korrelation mit Kortisol (r)	p - Wert
BDI		
Durchschnittswert	0,560	0,010*
STAI		
State X1	-0,178	0,453
Trait X2	-0,227	0,337
EPQ -RK		
Psychotizismus	-0,350	0,885
Neurotizismus	0,366	0,113
Extraversion	0,398	0,082
BIG Five		
Neurotizismus	0,219	0,354
Extraversion	0,436	0,055
Verträglichkeit	-0,136	0,567
Gewissenhaftigkeit	-0,189	0,425
Offenheit für Erfahrungen	-0,021	0,930

Tabelle 1: Pearsonkorrelation zwischen Summenwerten der psychometrischen Fragebögen und Kortisolwerten aus dem Dex/CRH-Test. * $p < 0,05$.

3.4 Ergebnisse zur Fragestellung I:

Gibt es eine funktionelle Verknüpfung mit prädiktivem Wert zwischen funktioneller Konnektivität und HPA-Achse gibt

3.4.1 Ausschluss von signifikanten Vigilanzeffekten in der funktionellen Konnektivität der für die Korrelation untersuchten Zeitfenster

Beim Vergleich der durchschnittlichen Vigilanz zwischen den relevanten Zeitfenstern der Messtermine 1 und 3 zeigten sich keine signifikanten Unterschiede ($T = 0,75$; $p = 0,462$). Die Probanden waren meistens wach, mit vereinzelt 30 s Epochen mit Schlafstadium 1 und keiner Epoche mit Schlafstadium 2. Die Zeiten über alle Epochen in denen die Probanden wach waren betrugen 283 ± 95 s für Messtermin 1 und 262 ± 100 Sekunden für Messtermin 3 von pro Zeitfenster möglichen 360 s. Das bedeutet, dass die Probanden im Durchschnitt bei Messung 1 $\sim 79\%$ und bei Messung 2 $\sim 72\%$ der Zeit wach waren.

3.4.2. Seedbasierte Ruhenetzwerke

Die Korrelationskarten für alle linkshemisphärischen Seedregionen, wie sie sich aus der Testung aller verfügbaren First-Level-Analysen ($N = 40$) in der Testung

gegen Null (einseitiger T-Test) ergeben sind in Abbildung 19 dargestellt. Antikorrelationen wurden nicht berücksichtigt.

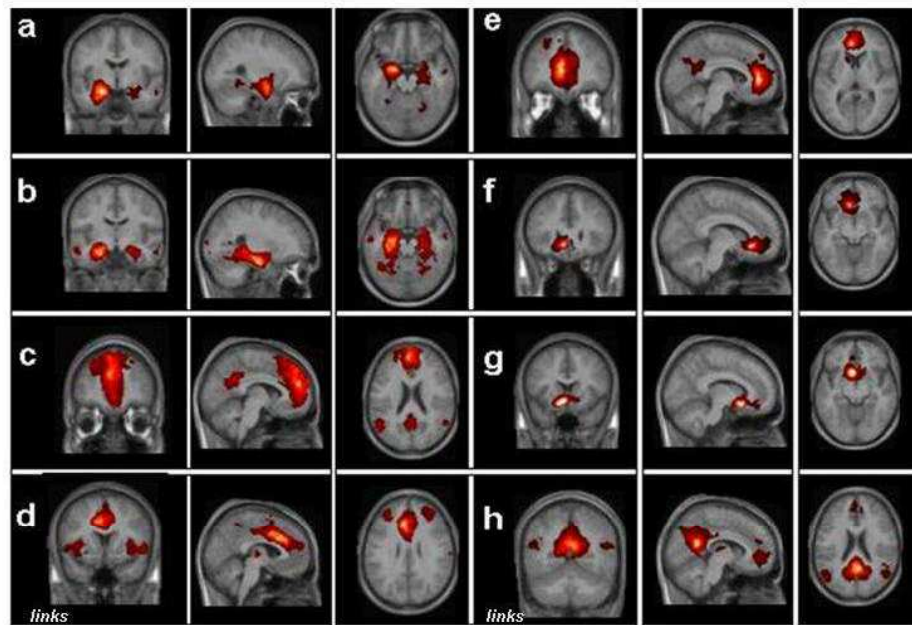


Abbildung 19: Autokorrelationskarten: Exemplarisch für die links hemisphärischen Seeds gezeigt. (a) Amygdala (b) Hippocampus (c) mPFC (d) dorsaler ACC (e) rostraler ACC (f) subcallosal ACC (g) subgenual ACC (h) PCC. Die Korrelationskarten basieren auf den Karten der gemittelten Betakoeffiziente (2 x 20 Korrelationskarten pro Seedregion), $p_{\text{FWE-korr.}} < 10^{-4}$

3.4.3 Korrelationen der funktionellen Konnektivität mit dem Ergebnis des Dex/CRH-Tests

Das Vorliegen von signifikanten Korrelationen zwischen seedbasierter funktioneller Konnektivität und den im Dex/CRH-Test gemessenen ACTH_{AUC} - und $\text{Kortisol}_{\text{AUC}}$ -Werten wurde in sieben Netzwerken (neun Ergebniscuster) festgestellt. Die entsprechenden Seedregionen, die Korrelationsrichtung und die dazugehörigen statistischen Werte sowie die anatomische Lokalisation der Ergebniscuster sind in Tabelle 2 gelistet.

Es wurden sowohl positive als auch negative Korrelationen gefunden, wobei die meisten Korrelationen negativ waren. Eine negative Korrelation bedeutet, dass eine geringere funktionelle Konnektivität zwischen der Seedregion und dem Ergebniscuster mit einer höheren Stresshormonreaktion im Dex/CRH-Test einhergeht. Die stärkste negative Korrelation mit $\text{Kortisol}_{\text{AUC}}$ wurde für das Netzwerk des linken Hippokampus gefunden ($p_{\text{cluster.FWE}} = 0,001$; $R^2 = 0,70$), wobei das Ergebniscuster im rechten Hippokampus lokalisiert war (siehe Abbildung 20).

Je stärker also die Konnektivität zwischen linkem und rechtem Hippokampus ausgeprägt war, desto niedriger war die Kortisolantwort im Dex/CRH-Test. Dieser Zusammenhang wurde durch eine ebenfalls negative Korrelation des gleichen Netzwerkes mit den ACTH_{AUC} -Werten bestätigt.

Weitere negative Korrelationen mit Kortisol wurden für die mPFC Netzwerke beider Hemisphären gefunden. Dabei lagen die Ergebnisluster für den rechtsseitigen mPFC vor allem im rechtsseitigen mPFC selbst, für den linksseitigen mPFC ebenfalls im bilateralen mPFC mit Ausbreitung in den rechten ACC. Auch für zwei der insgesamt vier untersuchten ACC Netzwerke wurden negative Korrelationen mit Kortisol gefunden. Sowohl der linke dorsale als auch der rostrale ACC zeigten signifikante Ergebnisluster in Bereichen des bilateral cingulären Kortex.

Positive signifikante Korrelationen mit $ACTH_{AUC}$ wurden für zwei Netzwerke gefunden: Die linksseitige Amygdala und der linksseitige subcallosale ACC. Das Ergebnisluster der linken Amygdala lag dabei im rechten Hippokampus und im Gyrus (G.) parahippocampalis, das Ergebnisluster des subcallosal ACC im linken ACC selbst.

Seedregionen die nicht in der Tabelle aufgeführt sind zeigten keine signifikanten Verbindungen die mit den Hormonwerten korrelierten. Dies gilt insbesondere auch für den PCC als Kontrollregion.

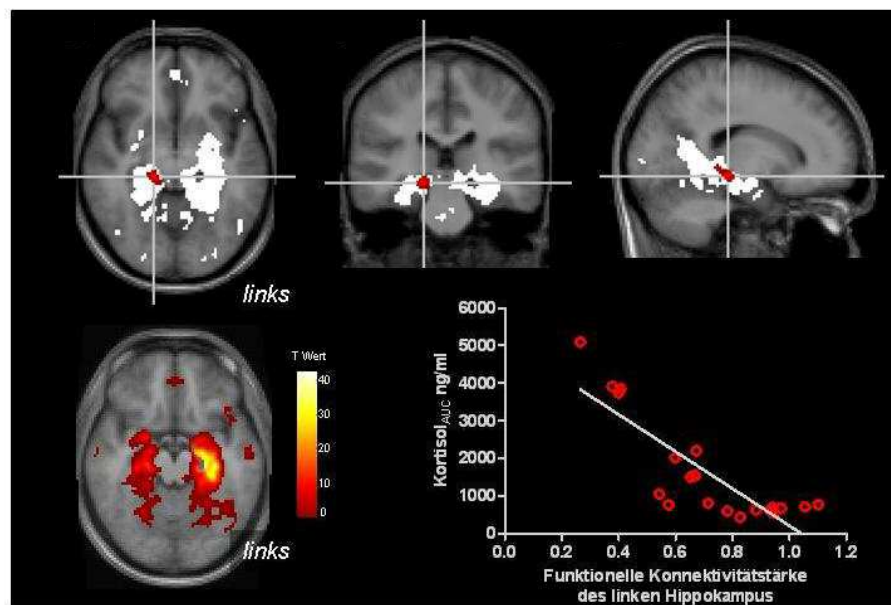


Abbildung 20: Transhemispherische hippocampale Konnektivität als Marker für die im Dex/CRH-Test provozierte Kortisolausschüttung. Oben: Das Hintergrundbild stellt eine gemittelte anatomische Aufnahme aller 20 Probanden dar. Der weiße Bereich repräsentiert das vom linken Hippokampusseed rekrutierte Netzwerk, der rote Bereich markiert die Region im rechten Hippocampus, die signifikant mit den Kortisol_{AUC}-Werten korrelierte (Ergebnisluster $p_{Voxel} < 0,005$; $p_{cluster.FWE} = 0,0014$). Unten links: Darstellung des vom linken Hippokampus rekrutierte Netzwerk mit Farbdarstellung der T-Werte (Schwelle $p_{Voxel.FWE} < 0,05$) Unten rechts: Stärke der funktionellen Konnektivität aufgetragen gegen die individuellen Kortisol_{AUC}-Werte der Probanden.

Ergebnisse

Seed - region ^a	FWE-korrigierter Cluster p-Wert	Clustergröße in Voxel	Peak Voxel Koordinaten (im MNI-Raum)	Ergebniscluster ^b Lokalisation	Anteil der Region zum Cluster in Prozent ^b
Positive Korrelation mit ACTH_{AUC}					
L Amygdala	0,023	40	22 -22 -14	R Hippokampus R G. parahippocampalis	35 33
L ACC subcallosalis	0,009	33	-4 36 -8	L ACC	100
Negative Korrelation mit Kortisol_{AUC}					
L Hippokampus	0,001	133	18 -28 -10	R G. lingualis R Hippokampus R G. parahippocampalis	44 20 19
L mPFC	0,011	118	2 42 32	L G. frontalis medius R G. frontalis medius R ACC	59 25 13
R mPFC	0,013	69	18 24 54	R G. frontalis medius R supplementär-motorisches Areal	91 9
L ACC dorsalis	0,025	39	0 12 42	R MCC L MCC L supplementär-motorisches Areal	44 44 8
	0,011	108	-8 42 18	R ACC L ACC L G. frontalis medius	64 28 7
L ACC rostralis	0,004	75	-6 36 20	R ACC L ACC	53 47
Negative Korrelation mit ACTH_{AUC}					
L Hippokampus	0,012	59	14 -42 -6	R G. lingualis R G. parahippocampalis R Hippokampus	68 15 12

Tabelle 2: Für den Dex/CRH-Test vorhersagende seedbasierte funktionelle Konnektivität. ^a Nomenklature der Seedregionen wie im Methodenteil beschrieben.

^bClusterlokalisierung wurde durch die Automated Anatomical Labeling (AAL) Toolbox durchgeführt (Tzourio-Mazoyer et al., 2002). Abkürzungen: G. Gyrus; ACC Area cingularis anterior des G. cinguli; MCC Area cingularis medialis des G.cinguli; mPFC medialer präfrontaler Kortex

3.4.4 Kreuzkorrelationen der funktionellen Konnektivität zwischen den Seedregionen und dem Ergebnis des Dex/CRH-Tests

Für die Konnektivität zwischen den Seedregionen und den Hormonwerten des Dex/CRH-Tests zeigten sich insgesamt nur schwache Korrelationen. Dabei erreichten nur 10 von insgesamt 105 getesteten Paaren eine nominelle Signifikanz ($p < 0,05$). Zwei positive Korrelationen wurden für die Interseed-Konnektivität zwischen dem linken dorsalen und rostralen ACC und dem rechten bzw. linken subcallosalen ACC gefunden. Der niedrigste p-Wert der Kortisol_{AUC} vorhersagenden Korrelation wurde für die Konnektivität zwischen dem rechten und linken Hippokampus gefunden ($r = -0,52$; $p = 0,020$). Alle Interseed-Konnektivitätspaare sind mit entsprechenden p-Werten in Tabelle 3 aufgeführt, wobei keiner dieser Effekte die multiple Testkorrektur der „approximierte false discovery rate“, kurz AFDR-Methode ($\sim 0,0048$) überstand.

Seedregionen Paar ^a		Hormon	Pearson-Korrelationskoeffizient	p-Wert
L ACC rostralis	L ACC subcallosus	ACTH _{AUC}	0,472	0,0358
L ACC dorsalis	R ACC subcallosus	ACTH _{AUC}	0,505	0,0233
L Hippokampus	R Hippokampus	Kortisol _{AUC}	-0,516	0,0198
R mPFC	L ACC dorsalis	Kortisol _{AUC}	-0,510	0,0215
L mPFC	L ACC dorsalis	Kortisol _{AUC}	-0,490	0,0282
L mPFC	L ACC dorsalis	ACTH _{AUC}	-0,488	0,0291
L ACC dorsalis	L ACC rostralis	Kortisol _{AUC}	-0,485	0,0301
L Amygdala	R Hippokampus	Kortisol _{AUC}	-0,463	0,0398
R Amygdala	R Hippokampus	Kortisol _{AUC}	-0,460	0,0415
L mPFC	L ACC dorsalis	ACTH _{AUC}	-0,452	0,0452

Tabelle 3: Für den Dex/CRH-Test vorhersagende funktionelle Konnektivität zwischen der Seedregionen. ^aErgebnisse für Konnektivitäten mit nomineller Signifikanz von $p < 0,05$ nach p-Wert sortiert. Rot umrandet die zwei positiven Korrelationen. Abkürzungen: ACC Area cingularis anterior des G. cinguli; mPFC medialer präfrontaler Kortex.

Ergebnisse

Da die Seedanalyse vermuten ließ, dass eine Aufteilung der Regionen in ihre Subkompartimente ein Regionen spezifischeres Abbild der relevanten funktionellen Konnektivitäten geben könnte, wurde eine zytoarchitektonische Segmentierung des Amygdala- und des Hippokampus-Seeds in je drei Subregionen durchgeführt. Insgesamt wurden dreiundzwanzig Seedregionen untereinander getestet. Aufgrund der hohen Korrelation der Zeitreihen der Seeds untereinander wurde wieder das Verfahren der multiplen Testkorrektur nach AFDR angewandt. Die AFDR-Schwelle betrug für die 253 durchgeführten Tests $\sim 0,0041$, so dass fünf Korrelationspaare identifiziert wurden, deren p-Wert kleiner AFDR war. Diese sind in Tabelle 4 zusammen mit den Korrelationspaaren die die nominelle Signifikanz von $p < 0,05$ erreichten, gelistet und in Abbildung 21 grafisch dargestellt. Der stärkste Effekt (mit dem niedrigsten p-Wert $r = -0,71$; $p = 0,0005$) für die Vorhersage der Kortisolantwort wurde zwischen der rechten Amygdala und dem rechten Subiculum gefunden.

Seedregionen Paar ^a		Hormon	Pearson-Korrelationskoeffizient	p-Wert
R Subiculum	R Amygdala	Kortisol _{AUC}	-0,706	0,0005*
R Subiculum	R Amygdala basolateralis	Kortisol _{AUC}	-0,693	0,0006*
R Cornu ammonis	L Amygdala superficialis	Kortisol _{AUC}	-0,657	0,0016*
R Hippokampus	L Amygdala superficialis	Kortisol _{AUC}	-0,651	0,0019*
R Subiculum	R Amygdala medialis	Kortisol _{AUC}	-0,636	0,0026*
R Subiculum	L Amygdala	Kortisol _{AUC}	-0,600	0,0051
R Cornu ammonis	L Amygdala superficialis	ACTH _{AUC}	-0,597	0,0055
R ACC rostralis	L Amygdala superficialis	Kortisol _{AUC}	-0,587	0,0065
R Subiculum	R Amygdala basolateralis	ACTH _{AUC}	-0,580	0,0073
L Hippokampus	R Subiculum	Kortisol _{AUC}	-0,564	0,0095

Tabelle 4. Verbindung der Interseed-Subregionen-Konnektivität und den Hormonwerten aus dem Dex/CRH-Test für Amygdala und Hippocampus. ^aErgebnisse für Konnektivitäten mit nomineller Signifikanz von $p < 0,05$ nach p-Wert sortiert. * $p < AFDR$

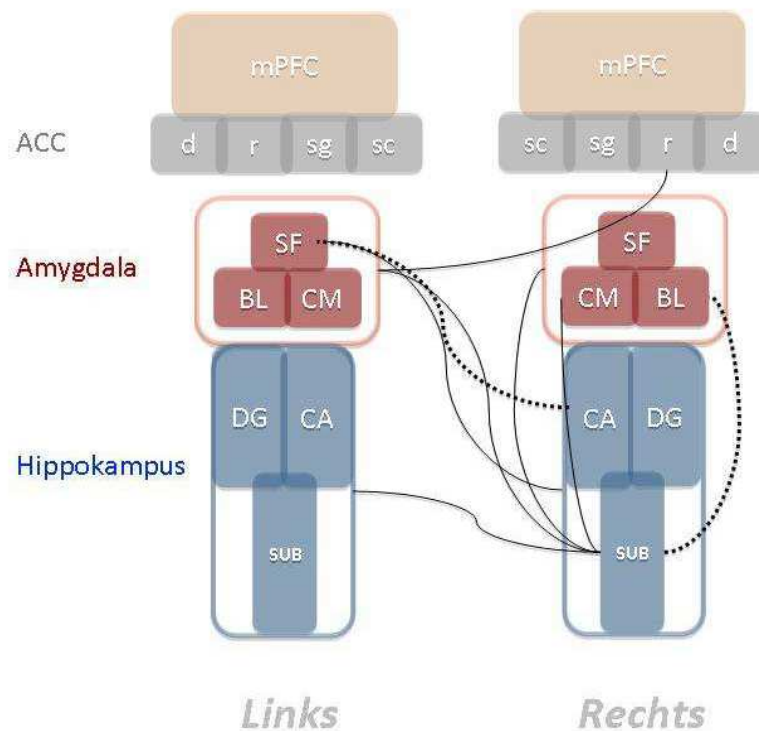


Abbildung 21: Interseedsubregionen-Konnektivitäten mit signifikanter Korrelation zum Dex/CRH-Test. Insgesamt zehn funktionelle Konnektivitäten bei Einschluss der Subregionen der Amygdala und des Hippokampus ($p < 0,05$) zeigten eine signifikante Korrelation zum Dex/CRH Test. Die durchgezogenen Linien stellen Verbindungen dar, die prädiktiv für Kortisol waren. Die gestrichelten Linien stellen die für die Kortisol- und ACTH prädiktiven Korrelationen dar. Abkürzungen: G. Gyrus; mPFC medialer präfrontaler Kortex; ACC Area cingularis anterior des G. cinguli (d dorsal, r rostral, sg subgenual, sc subcallosal); Amygdala (SF superficialis, BL basolateralis, CM medialis); Hippokampus (DG G. dentatus, CA Cornu ammonis, SUB Subiculum).

3.5 Ergebnisse zur Fragestellung II:

Welchen Einfluss hat die Änderung des Kortisolmilieus bzw. eine Kortisolinjektion auf die Ruhenetzwerke im Gehirn?

3.5.1 Vigilanzeffekte auf die funktionelle Konnektivität

Die Überprüfung der EEG-Daten auf Normalverteilung zeigte, dass die Daten der einzelnen Messabschnitte nicht normal verteilt waren (Tabellen 5). Ein signifikanter Unterschied der Vigilanz wurde im Verlauf der Messtage 1 und 3 gefunden (Friedman Test für Kortisol 0,006 und für Placebo $< 0,001$). In den post-hoc Analysen ergab der Wilcoxon Test für die Placebobedingung (PLAC) einen signifikanten Unterschied in der Vigilanz sowohl zwischen PRE und EARLY ($Z = -3,68$; $p < 0,001$) als auch zwischen PRE und LATE ($Z = -3,73$; $p < 0,001$). Zwischen EARLY und LATE änderte sich die Vigilanz nur noch trendweise ($Z = -1,83$; $p = 0,068$). Im Verlauf der Kortisolbedingung (CORT) zeigten sich ebenfalls signifikante

Ergebnisse

Vigilanzunterschiede über die Zeit (PRE zu EARLY: $Z = -3,02$; $p = 0,003$; PRE zu LATE: $Z = -2,53$; $p = 0,012$), wobei hier kein Vigilanzunterschied zwischen EARLY zu LATE vorlag ($Z = -0,88$; $p = 0,378$).

Im Vergleich der beiden Messtage mit akuter Intervention untereinander zeigten sich weder für PRE ($Z = -0,61$; $p = 0,542$) noch für EARLY ($Z = 0,00$; $p = 1$) signifikante Vigilanzunterschiede. Jedoch ergab der Vergleich LATE einen signifikanten Vigilanzunterschied ($Z = -2,12$; $p = 0,034$). Hier waren die Probanden im Durchschnitt unter Kortisol wacher als unter Placebo ($141,75 \pm 147,00$ bzw. $72,90 \pm 116,73$ s). Eine zwei faktorielle ANOVA mit Messwiederholung ergab allerdings keine signifikanten Intervention \times Zeit Effekte ($F = 2,20$; $p = 0,140$).

Messabschnitt	W-Wert	p-Wert
CORT PRE	0,871	0,012
CORT EARLY	0,717	< 0,001
CORT LATE	0,793	0,001
PLAC PRE	0,804	0,001
PLAC EARLY	0,840	0,004
PLAC LATE	0,683	< 0,001
DEX	0,829	0,002

Tabelle 5: Test der Vigilanzdaten auf Normalverteilung (Shapiro-Wilk-Test)

	CORT PRE - EARLY	CORT PRE - LATE	CORT EARLY - LATE
Z	-3,020	-2,527	-0,882
p - Wert	0,003	0,012	0,378
	CORT PRE - DEX	CORT early - DEX	CORT LATE - DEX
Z	-0,355	-2,698	-2,778
p - Wert	0,722	0,007	0,005
	PLAC PRE - EARLY	PLAC PRE - LATE	PLAC EARLY - LATE
Z	-3,682	-3,726	-1,825
p - Wert	<0,001	<0,001	0,068
	PLAC PRE - DEX	PLAC EARLY - DEX	PLAC LATE - DEX
Z	-0,968	-3,101	-3,825
p - Wert	0,333	0,002	<0,001

Tabelle 6: Vigilanzvergleich zwischen den Zeitfenstern innerhalb einer Intervention und zwischen den 3 Messtagen mittels dem nicht-parametrischem Wilcoxonstest

	CORT – PLAC PRE	CORT – PLAC EARLY	CORT – PLAC LATE
Z	0,610	<0,001	-2,121
p - Wert	0,542	1	0,034

Tabelle 7: Vigilanzvergleich zwischen den Zeitfenstern der beiden akut Interventionen Placebo und Kortisol mittels dem nicht-parametrischem Wilcoxonstest

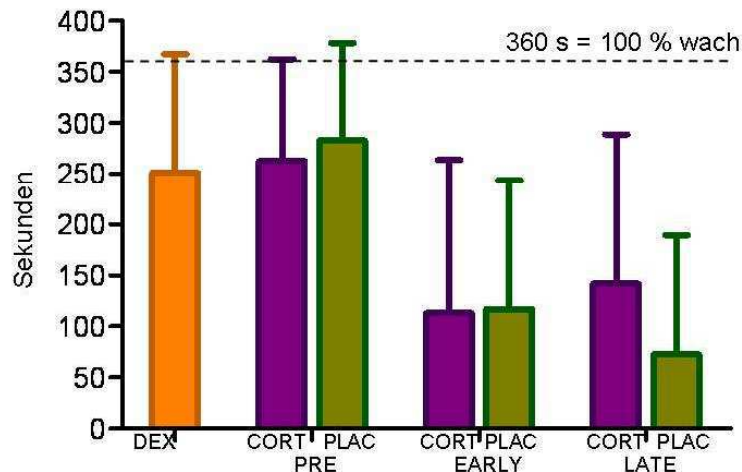


Abbildung 22: Vigilanz in den sechs relevanten Messabschnitten und während der post Dexamethason (Dex) Bedingung. Y-Achse: Wachzeit in Sekunden (360 s, sechs Minuten entsprechen 100% wach). Es ist zu erkennen, dass sowohl für post Dexamethason als auch für die Zeitfenster vor der Injektion keine vollständige Wachheit bestand. In den Messabschnitten CORT EARLY, CORT LATE sowie PLAC EARLY und PLAC LATE zeigten sich zusätzliche signifikante Abnahmen der Vigilanz (siehe Tabelle 6). PRE: vor der Injektion, EARLY: sofort nach der Injektion, LATE: 30 Minuten nach der Injektion; Lila: Messtag mit Kortisol Intervention, Grün: Messtag mit Placebo Intervention, Orange: Messtag nach Dexamethason.

3.5.2 Einfluss des experimentell veränderten Kortisolmilieus auf die funktionelle Konnektivität

Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war die experimentelle Modulation des Kortisolspiegels durch einerseits eine intravenöse Kortisolgabe, andererseits durch die Suppression des Kortisolspiegels durch die Gabe von Dexamethason. Zusammen mit einer Neutralbedingung (Placebo) ergaben sich drei verschiedene periphere Kortisolmilieus. Aufgrund der Annahme, dass Kortisol die Blut-Hirn-Schranke passieren kann sollte sich die periphere Änderung auch auf die intrazerebrale Kortisolkonzentration auswirken.

Die Ergebnisse der Vergleiche dieser drei Kortisolmilieus mittels multipler Seedanalyse (3.5.2.1) und FCDM (3.5.2.3), werden in den folgenden Abschnitten berichtet. Wie im Methodenteil detailliert beschrieben, wurden für die Analysen des Kortisolmilieus drei verschiedenen Zeitpunkte analysiert. Das Zeitfenster PRE entspricht einem Zeitpunkt vor der Injektion, das Zeitfenster EARLY einem frühen und LATE einem späteren Postinjektionszeitpunkt.

3.5.2.1 Analyse der seedbasierten Netzwerke

Die in Folge berichteten Ergebnisse sind für die Vigilanzunterschiede zwischen den analysierten Zeitfenstern (vgl. Punkt 3.5.1) korrigiert. Wie in Kapitel 3.4 wurden Ergebniscluster mit einem $p_{\text{cluster.FWE}}$ -Wert kleiner als $< 0,05$ als signifikant und zwischen $0,05$ und $< 0,10$ als Trend berichtet. Die Netzwerke, deren Änderungsrichtung, sowie die dazugehörigen statistischen Werte und die mit der AAL Toolbox definierte Lokalisation der Ergebniscluster sind in Tabelle 6 aufgeführt und graphisch in der Abbildung 23 zusammengefasst.

Im ersten Zeitfenster PRE wurde ein signifikanter Effekt des Kortisolmilieus auf die Konnektivität zweier Netzwerke gefunden. Erstens, die funktionelle Konnektivität des linken Cornu ammonis zum linken G. fusiformis und linken G. temporalis inferior, zweitens, die funktionelle Konnektivität des linken Subiculum zum linken G. fusiformis und linken G. lingualis. Ein post-hoc T-Test zeigte, dass die Konnektivität unter Dexamethason signifikant, sowohl im Vergleich zwischen Dexamethason und Kortisol (Cornu ammonis $T = 5,03$; $p = 0,035$; Subiculum $T = 4,60$; $p = 0,008$) als auch im Vergleich zwischen Dexamethason und Placebo (Cornu ammonis $T = 4,92$; $p = 0,016$; Subiculum $T = 4,15$; $p = 0,009$), abnahm.

Für das Zeitfenster EARLY wurden ein signifikantes und zwei Trendergebnisse gefunden. Der signifikante Effekt zeigte sich in der funktionellen Konnektivität der rechten Amygdala zum rechten G. parahippocampalis und zum rechten Hippokampus. Dabei war die Konnektivität unter Dexamethason im Vergleich zu Placebo ($T = 4,42$; $p = 0,014$) niedriger. Der post-hoc T-Test zeigte zudem, dass im Vergleich zwischen Dexamethason zu Kortisol nur ein Trend zu einer niedrigeren Konnektivität ($T = 3,59$; $p = 0,067$) vorlag. Zusätzlich zeigte sich dafür für EARLY auch eine signifikante Abnahme der Konnektivität der rechten Amygdala für Kortisol im Vergleich zu Placebo ($T = 0,03$; $p = 0,025$). Ein Trendeffekt wurde für die funktionelle Konnektivität des rechten mPFC zum linken mPFC und zum linken ACC gefunden. Dabei zeigte der post-hoc T-Test, dass die funktionelle Konnektivität unter Dexamethason sowohl im Vergleich zu Kortisol ($T = 4,06$; $p = 0,002$) als auch im Vergleich zu Placebo ($T = 4,08$; $p = 0,038$) niedriger waren. Der zweite Trendeffekt wurde für das Netzwerk des linken rostralen ACC gefunden: hier lagen die Ergebniscluster im rechten G. orbitalis medius. Auch hier zeigte der post-hoc T-Test, dass die funktionale Konnektivität unter Dexamethason im Vergleich zu Kortisol ($T = 3,92$; $p = 0,027$) und zu Placebo ($T = 4,34$; $p = 0,015$) niedriger waren.

Für das Zeitfenster LATE wurde ein einziger signifikanter Effekt des Kortisolmilieus auf die Konnektivität gefunden. Dieser zeigte sich für den rechten mPFC, mit Ergebnisclustern im linken mPFC und im linken ACC. Auch hier war die Konnektivität in der Dexamethasonbedingung im Vergleich zu Placebo ($T = 4,40$; $p < 0,001$) und im Vergleich zu Kortisol ($T = 4,83$; $p = 0,001$) niedriger.

Seedregion ^a	FWE-korrigierter Cluster p-Wert	Clustergröße in Voxel	Peak Voxel Koordinaten (im MNI-Raum)	Ergebniscluster ^b Lokalisation	Anteil des Clusters in Prozent ^b
I Zeitfenster PRE [F-Test des Faktors Kortisolmilieu]					
<i>L Subiculum</i>	0,011	63	-22 -46 -10	<i>L G. fusiformis</i>	60
				<i>L G. lingualis</i>	38
<i>L Cornu ammonis</i>	0,020	40	-44 -50 -20	<i>L G. fusiformis</i>	59
				<i>L G. lingualis</i>	41
II Zeitfenster EARLY [F-Test des Faktors Kortisolmilieu]					
<i>R Amygdala</i>	0,043	17	16 -10 -18	<i>R G. parahippocampalis</i>	41
				<i>R Hippokampus</i>	35
<i>L ACC rostralis</i>	0,054	38	6 42 -10	<i>R G. orbitalis medius</i>	97
<i>R mPFC</i>	0,081	38	-8 36 26	<i>L mPFC</i>	58
				<i>L ACC</i>	42
III Zeitfenster LATE [F-Test des Faktors Kortisolmilieu]					
<i>R mPFC</i>	0,008	66	-8 42 32	<i>L mPFC</i>	53
				<i>L ACC</i>	47

Tabelle 8: Seedregionen und deren funktionellen Konnektivitätsveränderungen in Abhängigkeit des Kortisolmilieus für die drei analysierten Zeitpunkte. PRE (I): vor der akut Intervention. EARLY (II): gleich nach der Intervention. LATE (III): 30 Minuten nach der Intervention. Zeitabschnitt Dex ohne zeitliche Änderung. Es werden nur Seedregionen mit signifikanter Konnektivitätsänderungen ($p_{\text{cluster}} < 0,05$) angezeigt. Subregionen sind kursiv gedruckt. ^a nach p-Werten sortiert. ^b Clusterlokalisierung durch die AAL-Toolbox bestimmt (Tzourio-Mazoyer et al., 2002). Abkürzungen: G. Gyrus; ACC Area cingularis anterior des G. cinguli; mPFC medialer präfrontaler Kortex

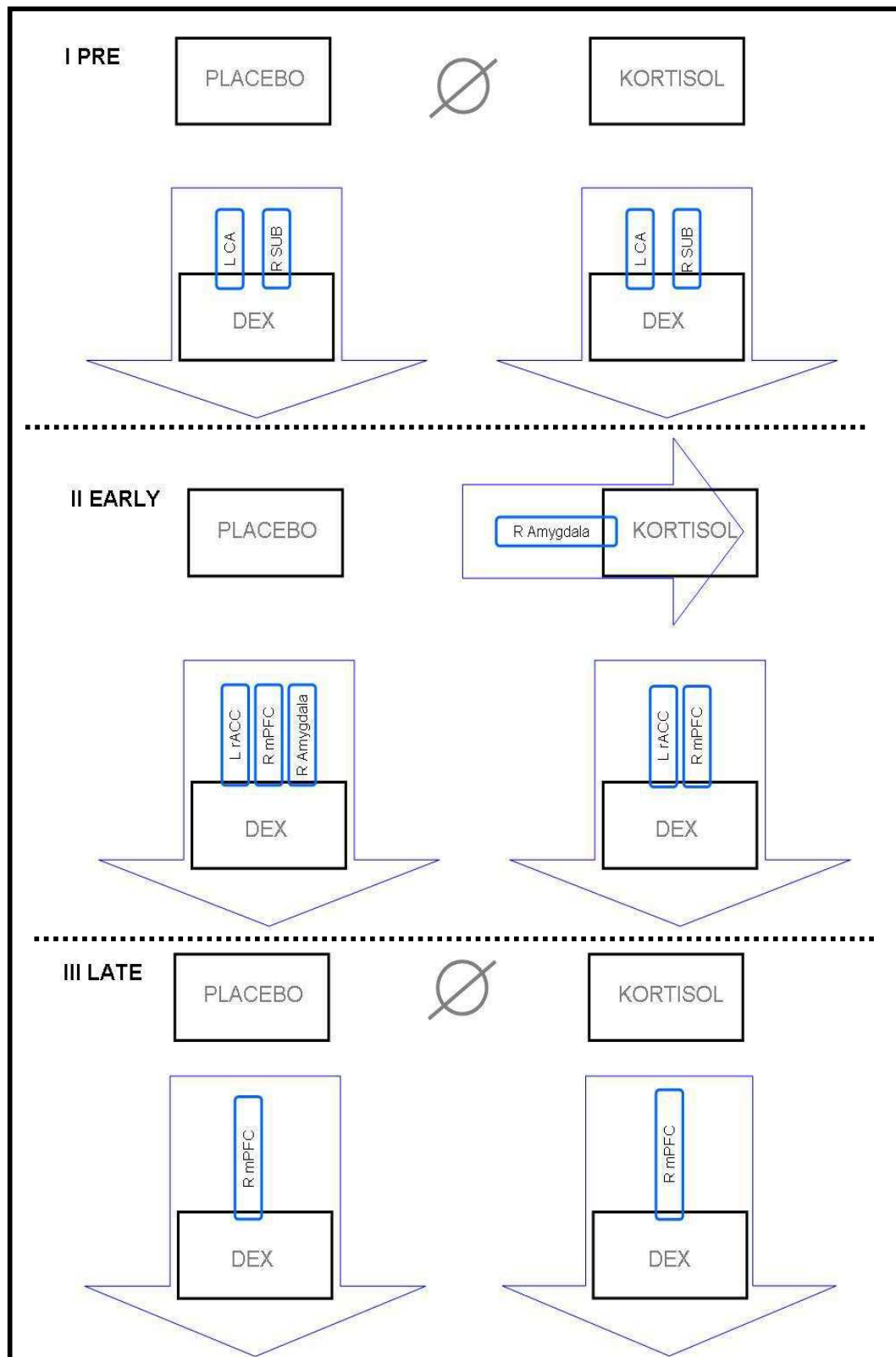


Abbildung 23: Änderung der funktionellen Konnektivität in Abhängigkeit des Kortisolmilieus. Die drei Arten des Kortisolmilieus sind die Normalbedingung (Placebo), erhöhtes Kortisol (Kortisol) und Kortisolsuppression (DEX). DEX ohne zeitliche Änderung. PRE (I): Vor der Gabe von Kortisol und Placebo. EARLY (II): gleich nach der Intervention und Late (III): 30 Minuten nach der Intervention. Seedbasierte Netzwerke mit signifikanter Abnahme sind blau umrandet, blaue Pfeile markieren eine Abnahme der Konnektivität. Seedregionen deren Konnektivität sich nicht (weder signifikant noch mit Trend) in Abhängigkeit des Kortisolmilieus ändern, sind nicht dargestellt. Statistische Details sind in Tabelle 6 berichtet. Abkürzungen: CA Cornu ammonis; rACC ACC rostralis, SUB Subiculum; mPFC: medialer präfrontal Kortex.

3.5.2.2 Einfluss der Vigilanz am Beispiel des rechten mPFC für die Ergebnisse der Seedanalyse

Da sich die Vigilanz, wie unter Punkt 3.5.1 beschrieben, zum Teil zwischen den analysierten Zeitfenstern unterscheidet, wurde der Einfluss der Vigilanz exemplarisch für den rechten mPFC als Seedregion ermittelt. Hierfür wurde der statistische Effekt der in den Analysen verwendeten Kovariate (EEG-Regressor) selbst untersucht. Wie in Abbildung 24 dargestellt, korreliert der Vigilanzregressor für den rechten mPFC mit der Konnektivität in Arealen, die zusammengenommen das Default Mode Network darstellen. Der Effekt war relativ schwach ($p_{\text{Voxel}} < 0,05$), aber in beiden Zeitfenstern EARLY und LATE zu erkennen. Die Korrelation war hierbei nur für den positiven T-Kontrast vorhanden. Im Zeitfenster PRE, in dem kein Vigilanzunterschied vorhanden war, zeigte auch bei der angewandten lockeren statistischen Schwelle kein Effekt. Eine signifikante Änderung zeigte sich in den anderen beiden Zeitfenstern (EARLY und LATE) zum bilateralen Präcuneus (EARLY: $T = 5,53$; $p_{\text{cluster.FWE}} = 0,007$; LATE: $T = 5,60$ $p_{\text{cluster.FWE}} = 0,004$) sowie für LATE zusätzlich zum linken ACC ($T = 4,19$; $p_{\text{cluster.FWE}} = 0,043$). Ein Trend zeigte sich im gleichen Zeitfenster zum PCC ($T = 4,20$; $p_{\text{cluster.FWE}} = 0,067$).

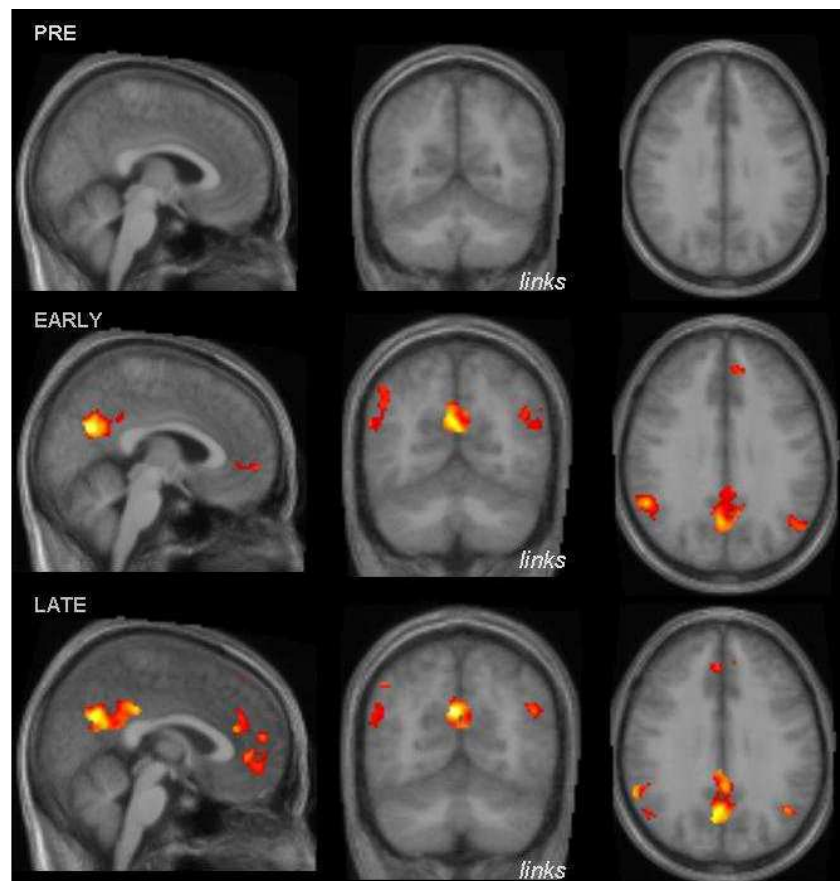


Abbildung 24: Änderung der Konnektivität des rechten mPFC in Abhängigkeit der Vigilanz. Oben: DMN für PRE, Mitte: DMN für EARLY, Unten: DMN für LATE Zeitfenster. Gezeigt ist der T-Kontrast je Zeitfenster für den EEG-Vigilanzregressor.

Um die Größe des Einflusses der Vigilanzkorrektur auf das Hauptergebnis abschätzen zu können, wurde dieser einmal mit und einmal ohne Vigilanzkorrektur für den rechten mPFC als Seedregion bestimmt (siehe Abbildung 25). Da der Unterschied der Vigilanz im LATE Zeitfenster zwischen den drei Kortisolmilieubedingungen am stärksten war (Friedmantest $p < 0,001$), wurde der Effekt der Vigilanzkorrektur für diesen Zeitpunkt bestimmt.

Das Ergebnis mit Vigilanzkorrektur entspricht dem Ergebniscluster in Tabelle 8 Abschnitt III LATE (mit $F = 12,22$; $p_{\text{cluster.FWE}} = 0,008$). Wurde der Vigilanzregressor entfernt, zeigte sich zunächst, dass sich die Peakkoordinate nicht deutlich veränderte (MNI Koordinate mit Vigilanzkorrektur $[-8 \ 42 \ 32]$ und ohne $[-10 \ 34 \ 26]$). Der p-Wert des Clusters war etwas niedriger ($F = 14,27$; $p_{\text{cluster.FWE}} = 0,006$), aber nicht kategorial verändert.

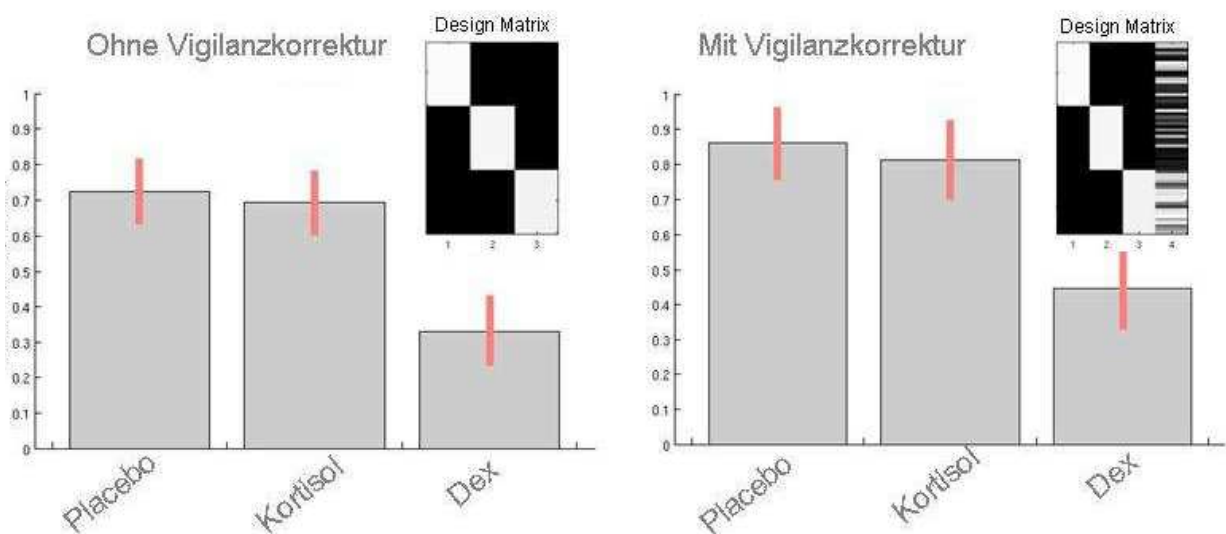


Abbildung 25: Einfluss der Vigilanzkorrektur am Beispiel des rechten mPFC-Seeds. Gezeigt ist der Effekt der Vigilanzkorrektur exemplarisch am Ergebniscluster im linken mPFC für das Zeitfenster LATE. Die Balken entsprechen der Stärke der Konnektivität je Kortisolmilieu. Y-Achse gibt den Wert der Kontrastschätzung an (engl. contrast estimate)

3.5.2.3 Analyse des Effekts des Kortisolmilieus durch Functional Connectivity Density Mapping

Die in Folge berichteten Ergebnisse sind wie schon in der Seedanalyse für die Vigilanzunterschiede zwischen den analysierten Zeitfenstern (vgl. Punkt 3.5.1) korrigiert. Die Ergebniscluster mit einem $p_{\text{cluster.FWE}}$ -Wert kleiner als $< 0,05$ werden als signifikant und zwischen $0,05$ und $< 0,10$ als Trend berichtet. Im Zeitfenster LATE wurde für ein Areal im linken dorsolateralen präfrontalen Kortex ein Trendeffekt ($F = 13,46$; $p = 0,090$) der Änderung der Konnektivitätsdichte für den Haupteffekt des Kortisolmilieus gefunden (siehe Abbildung 26). Dabei zeigten die post-hoc T-Tests sowohl für den Vergleich zwischen Placebo und Dexamethason ($T = 4,88$; $p = 0,050$) als auch zwischen Kortisol und Dexamethason (mit zwei Peakvoxeln im Ergebnisclustern: $T = 5,04$; $p = 0,043$ bzw. $T = 4,34$; $p = 0,006$)

eine signifikante Abnahme der Konnektivitätsdichte in dieser Region in der Dexamethasonbedingung.

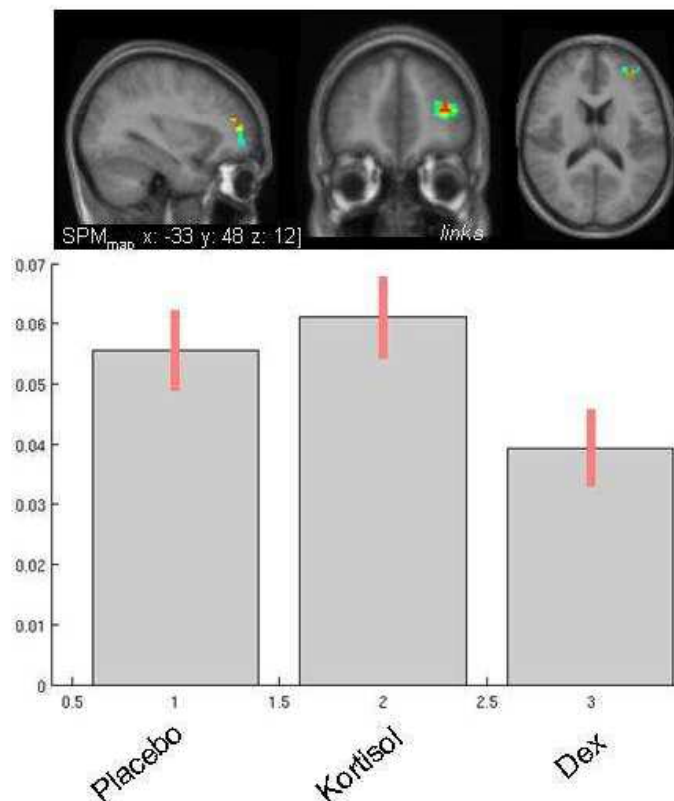


Abbildung 26: Einfluss des Kortisolmilieus auf die Konnektivitätsdichte. Abgebildet ist der stärkste Effekt, der im Zeitfenster LATE einen Trend für den Haupteffekt des Milieus zeigte ($p = 0,090$). Die mittlere Konnektivitätsdichte pro Bedingung ist im Balkendiagramm dargestellt. Y-Achse: Wert der Kontrastschätzung an (engl. contrast estimate)

3.5.3 Einfluss durch die Kortisol/Placebo-Intervention

Um die Effekte der akuten Kortisolgabe im Vergleich zu Placebo zu untersuchen wurden verschiedene Analysemethoden herangezogen: Die Analyse verschiedener seedbasierter Netzwerke, die Analyse mittels Kreuzkorrelation dieser Seedregionen, die Erweiterung der Kreuzkorrelationen auf das gesamte Gehirn unter Verwendung des AAL-Atlas-Systems und die FCDM-Methode. Das Hauptinteresse lag hierbei auf den Intervention \times Zeit Effekten. Dieser Interaktionseffekt wird für alle angewandten Analyseansätze berichtet. Für die Kreuzkorrelationsanalysen werden noch zusätzlich die Haupteffekte Intervention und Zeit berichtet.

3.5.3.1 Seedbasierte Netzwerkanalyse-Intervention × Zeit Effekt

Bei den Analysen des Interaktionseffekts zeigte sich allgemein eine schwache Änderung der funktionellen Konnektivität der seedbasierten Netzwerke. Nur für das Netzwerk des rechtsseitigen subcallosalen ACC ($F = 12,89$; $p = 0,008$), von den insgesamt einundzwanzig untersuchten Netzwerken, konnte ein signifikanter Intervention × Zeit Effekt ($p_{\text{cluster.FWE}}$ -Schwelle von $< 0,05$) identifiziert werden. Dabei nahm die funktionelle Konnektivität zum rechten Nucleus caudatus unter Kortisol im EARLY Zeitfenster erst ab und im LATE Zeitfenster wieder zu. Unter Placebo wurde ein gegenteiliger Verlauf beobachtet (siehe Abbildung 27). Ein Trendeffekt zeigte sich innerhalb der untersuchten Netzwerke noch für den linksseitigen subcallosalen ACC ($F = 13,34$; $p = 0,057$) und den linksseitigen subgenualen ACC ($F = 10,06$; $p = 0,060$). Allerdings lagen die Ergebniskluster aller drei berichteten Effekte nicht im Netzwerk selbst.

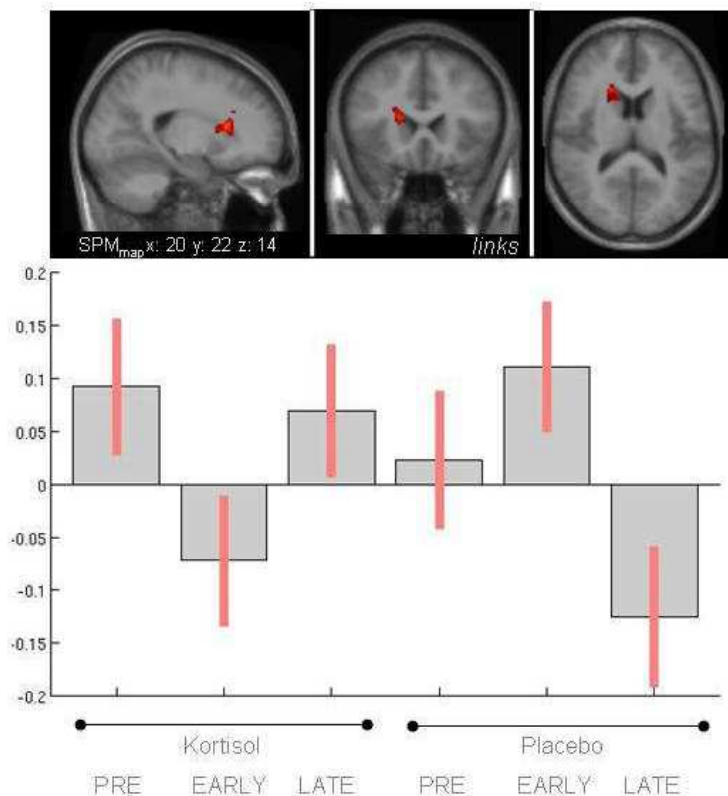


Abbildung 27: Signifikanter Intervention × Zeit Effekt im seedbasierten Netzwerk des rechten subcallosalen ACC. Das Zielcluster (x: 20 y: 22 z: 14) im rechten Nucleus caudatus ist hierbei außerhalb des Kernbereichs des Netzwerkes selbst. Die Änderung der Konnektivität je Bedingung und Zeitpunkt ist im Balkendiagramm dargestellt. Y-Achse gibt den Wert der Kontrastschätzung an (engl. contrast estimate)

3.5.3.2 Interseed-Analysen

a) Intervention × Zeit Effekt

Ein signifikanter Interaktionseffekt wurde für Korrelationen zwischen denen in Tabelle 9 gelisteten Interseed-Paare gefunden. Hierbei fiel auf, dass der subgenuale ACC (linkshemisphärisch öfter als rechtshemisphärische) bei allen Paaren, teils in Kombination mit dem dorsalen ACC, teils in Kombination mit einer Hippokampussubregion (Subiculum) und dem mPFC, beteiligt war. Der stärkste Interaktionseffekt wurde für die Konnektivität zwischen linkem subgenual ACC und linkem dorsalen ACC ($p < 0,001$) gefunden. Nur dieser Wert überstand auch die multiple Testkorrektur durch die AFDR-Methode ($\sim 0,0042$). Die Post-hoc-Analyse zeigte, dass Kortisol einen stabilisierenden Effekt auf die Interseed-Konnektivität zu haben scheint, da unter Kortisol die Konnektivität zwischen diesen Regionen nicht so stark zwischen dem EARLY und LATE Zeitfenster schwankte wie unter Placebo. Die Interseed-Konnektivität zwischen Hippocampus und subgenualen ACC ebenso wie zwischen subgenualen ACC und mPFC nahmen unter Kortisol im Vergleich zu Placebo tendenziell über die Zeit hinweg ab.

Seedregionen Paar ^a		p-Wert
L ACC subgenualis	L ACC dorsalis	< 0,001*
L ACC subgenualis	R ACC dorsalis	0,004
L ACC subgenualis	R Subiculum	0,016
R ACC subgenualis	L ACC dorsalis	0,019
L ACC subgenualis	R Hippokampus	0,022
R ACC subgenualis	R mPFC	0,024
L ACC subgenualis	R mPFC	0,036

Tabelle 9: Intervention × Zeit Effekt auf die Interseed-Konnektivität. ^a nach p-Werten sortiert. Abkürzungen: ACC Area cingularis anterior des G. cinguli; mPFC medialer präfrontal Kortex.

b) Haupteffekt Intervention

Es wurde keine signifikante Änderung der Interseed-Konnektivität in Abhängigkeit der Intervention gefunden.

c) Haupteffekt Zeit

Es wurden signifikante Änderungen der Interseed-Konnektivität in Abhängigkeit des Faktors Zeit gefunden. Dabei erreichten vor allem Änderungen der Konnektivität zwischen Subregionen des Hippokampus und Subregionen des ACC sowie Konnektivitäten innerhalb von ACC-Subregionen signifikante Effekte ($p < 0,05$). Der stärkste Zeiteffekt wurde für die Konnektivität (Zunahme über die Zeit) zwischen rechtem und linkem mPFC ($p = 0,0040$) gefunden. Dieser Wert überstand auch die multiple Testkorrektur auf Basis der AFDR ($\sim 0,0042$). Tabelle 10 gibt alle signifikanten Interseed-Konnektivitätspaare, für die der Faktor Zeit signifikant war, an.

Interseed-Paar ^a		p-Wert
<i>L</i> mPFC	<i>R</i> mPFC	0,004*
<i>R</i> ACC dorsalis	<i>R</i> ACC subcallosalis	0,008
<i>L</i> ACC subgenualis	<i>R</i> ACC subgenualis	0,011
<i>R</i> Cornu ammonis	<i>R</i> ACC subgenualis	0,017
<i>R</i> Cornu ammonis	<i>R</i> ACC rostralis	0,018
<i>R</i> Amygdala	<i>R</i> mPFC	0,024
<i>L</i> ACC subgenualis	PCC	0,029
<i>R</i> Hippokampus	<i>R</i> ACC subgenualis	0,040
<i>R</i> ACC dorsalis	<i>R</i> ACC rostralis	0,040
<i>R</i> <i>G. dentatus</i>	<i>L</i> mPFC	0,044
<i>L</i> <i>Cornu ammonis</i>	<i>R</i> ACC subcallosalis	0,049

Tabelle 10: Konnektivitätsänderungen der Interseed-Regionen in Abhängigkeit der Zeit. ^a nach p-Werten sortiert. Abkürzungen: ACC Area cingularis anterior des G. cinguli; mPFC medialer präfrontal Kortex. * $p < \text{AFDR} \sim 0,0042$.

3.5.3.3 Erweiterung der Interseed-Analysen auf das AAL System

a) Intervention × Zeit Effekt

Interaktionseffekte wurden mit einer Signifikanzstärke von $p < 0,005$ für unterschiedlichste Korrelationen gefunden. Der stärkste Interaktionseffekt wurde für die Konnektivität zwischen dem linkem G. orbitalis medialis und G. occipitalis medialis gefunden ($p = 0,0002$). Sechs der vierzehn Korrelationspaare waren robust gegenüber der multiple Testkorrektur mit der AFDR - Methode (korrigierter Alpha-Wert $\sim 0,0028$). Dabei waren vor allem Korrelationen zwischen frontalen und occipitalen Regionen sowie Korrelationen zwischen temporalen Regionen vertreten (siehe Tabelle 11).

Es zeigt sich sehr deutlich, dass die Effekte der Intervention über die Zeit genau gegensätzliche Auswirkungen auf die interregionale Konnektivität haben. Die post hoc Analysen der Intervention × Zeit Effekte zeigten, dass es verschiedene Muster zu beobachten gab: Zum einen gab es Zunahmen der funktionelle Konnektivität unter Kortisol, aber Abnahmen unter Placebo. Dieses Muster wurde für die Korrelationen zwischen occipitalen und zentralen Regionen sowie zwischen rechter Amygdala und parietalen Regionen beobachtet. Zum anderen zeigte sich auch das umgekehrte Muster, also eine Abnahme der funktionellen Konnektivität unter Kortisol und eine Zunahme unter Placebo. Dieses Muster wurde zwischen frontalen und occipitalen sowie frontalen und temporalen Regionen und auch zwischen temporalen Regionen und dem Thalamus gefunden.

AAL-Regionen Paar ^a		p-Wert
L G. orbitalis medialis	R G. occipitalis medialis	0,0002*
L G. frontalis inferior triangularis	R G. occipitalis inferior	0,0010*
L G. olfactorius	R G. fusiformis	0,0014*
L G. frontomedialis orbitus	R G. temporalis inferior	0,0015*
R Thalamus	R G. temporalis superior	0,0020*
R G. occipitalis superior	R Lobulus paracentralis	0,0026*
R Rolandic operculum	R Thalamus	0,0030
L G. orbitalis medialis	L G. temporalis inferior	0,0033
R G. occipitalis superior	R G. postcentralis	0,0034

<i>R</i> Amygdala	<i>R</i> G. parietalis superior	0,0038
<i>L</i> Thalamus	<i>L</i> G. temporalis medior	0,0043
<i>L</i> Rolandic operculum	<i>R</i> Thalamus	0,0045
<i>L</i> G. occipitalis inferior	<i>R</i> Lobulus paracentralis	0,0045
<i>L</i> Thalamus	<i>R</i> G. temporalis superior	0,0048

Tabelle 11: Intervention × Zeit Effekt auf die Inter-AAL Regionenkonnektivität. * $p < \text{AFDR} \sim 0,0028$. ^a nach p-Werten sortiert. Abkürzungen: ACC Cortex cinguli anterior; mPFC medialer präfrontal Kortex.

b) Haupteffekt Intervention

Es wurden für zwei AAL-Regionen Paare signifikante Änderungen der Inter-AAL-Regionenkonnektivität in Abhängigkeit des Faktors Intervention gefunden. Die signifikanten Effekte wurden bei einer Schwelle von $p < 0,005$ gefunden. Dabei konnte für die Placebo Intervention eine Zunahme für die Interregionenkonnektivität zwischen rechtem Operculum rolandi und rechtem Thalamus ($p = 0,0045$), sowie dem linken G. parahippocampalis und dem linken Globus pallidus ($p = 0,0028$) beobachtet werden. Unter Kortisol war deshalb erwartungsgemäß eine Konnektivitätsabnahme zwischen diesen Regionen zu beobachten (siehe Abbildung 28).

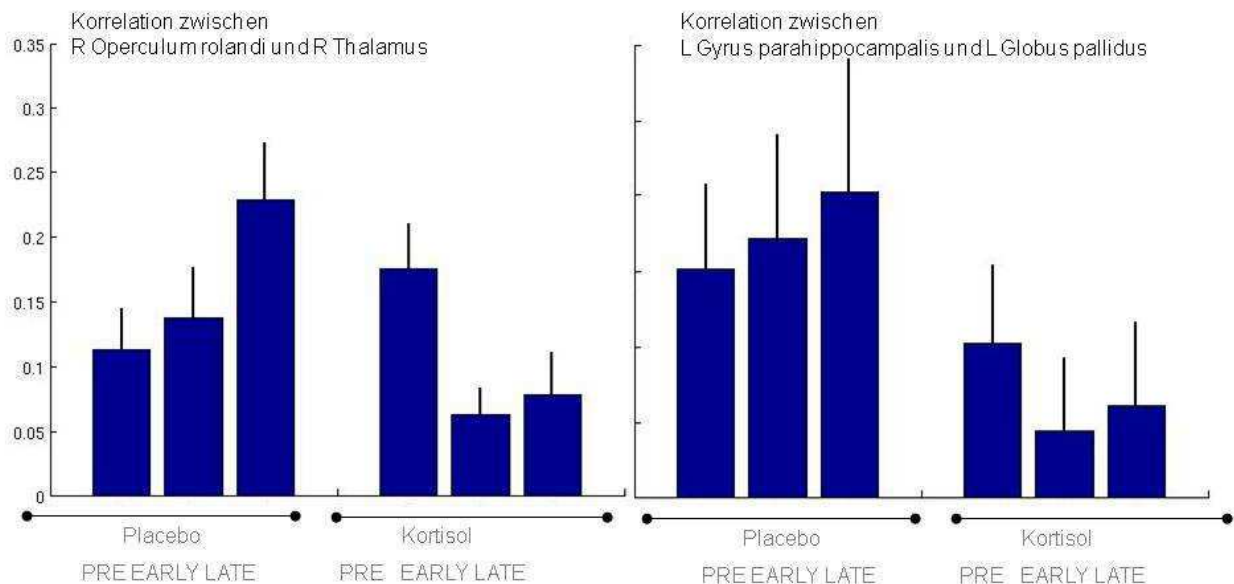


Abbildung 28: Haupteffekt des Faktors Intervention für das AAL-System.

c) Haupteffekt Zeit

In Abhängigkeit der Zeit wurden zahlreiche signifikante Änderungen der Konnektivität zwischen den AAL Regionen gefunden. Dabei erreichten vor allem Änderungen der Konnektivitäten zwischen frontalen und occipitalen Regionen, sowie Konnektivitäten zentraler Regionen sehr starke Effekte. Es wurden 253 signifikante Korrelationspaare bei einer Schwelle von $p < 0,005$ gefunden, dabei waren 190 Paare robust gegenüber der multiplen Testkorrektur nach AFDR-Methode ($\sim 0,0028$). In Tabelle 12 sind aus Übersichtsgründen nur Korrelationspaare mit p-Werten gelistet, die auch die Schwelle von $p < 0,0001$ überstanden.

Die post hoc Analysen für die gegenüber multipler Testkorrektur robusten Konnektivitäten zeigten, dass es verschiedene Muster für die Änderung der Konnektivität über die Zeit zu beobachten gab: Am stärksten vertreten waren Abnahme der funktionellen Konnektivität zwischen den Regionen im Zeitverlauf. Dieses Muster wurde für die Konnektivität zwischen zentralen Strukturen (präzentral zu parazentral) sowie zwischen zentralen und occipitalen Bereichen (prä- bzw. postzentral zu occipital) gefunden. Auch nahm die Konnektivität zwischen temporalen und para- und postzentralen Regionen sowie zwischen postzentralen und occipitalen Regionen mit der Zeit ab. Ebenfalls oft zu beobachten war das Muster bei dem die Konnektivität im Zeitverlauf erst abnahm und später wieder etwas zu, ohne den Anfangswert der Konnektivität zu erreichen. Dieses Muster betraf vor allem die Konnektivität zwischen frontalen und occipitalen sowie lingualen Arealen, war aber auch zwischen parazentralen und temporalen Arealen vertreten. Eine Zunahme der Konnektivität über die Zeit wurde vor allem für und zwischen frontale Regionen beobachtet sowie zwischen temporalen Regionen. Nur für die frontalen Regionen war auch das vierte Muster zu beobachten, indem die Konnektivität im Zeitverlauf erst zunahm und dann wieder ab.

Seedregionen Paar ^a		p-Wert
L mPFC	R G. lingualis	0,000003
L mPFC	R G. occipital superior	0,000006
R G. precentralis	R G. fusiformis	0,000009
L mPFC	R Cuneus	0,000009
L G. precentralis	R G. precentralis	0,000011
R G. precentralis	R G. occipitalis inferior	0,000011

<i>L</i> mPFC	<i>L</i> G. lingualis	0,000016
<i>L</i> G. postcentralis	<i>R</i> G. postcentralis	0,000017
<i>L</i> mPFC	<i>L</i> Cuneus	0,000018
<i>L</i> mPFC	<i>R</i> G. occipitalis medialis	0,000021
<i>R</i> G. precentralis	<i>R</i> G. occipitalis superior	0,000024
<i>R</i> G. fusiformis	<i>R</i> G. postcentralis	0,000028
<i>R</i> G. precentralis	<i>L</i> G. occipitalis inferior	0,000034
<i>L</i> G. precentralis	<i>R</i> G. occipitalis superior	0,000034
<i>L</i> mPFC	<i>R</i> G. calcarinus	0,000035
<i>L</i> G. precentralis	<i>L</i> Lobulus paracentralis	0,000040
<i>R</i> G. occipitalis inferior	<i>R</i> G. postcentralis	0,000051
<i>L</i> G. precentralis	<i>L</i> G. occipitalis inferior	0,000051
<i>L</i> G. precentralis	<i>R</i> G. lingualis	0,000060
<i>L</i> mPFC	<i>L</i> G. fusiformis	0,000060
<i>L</i> G. precentralis	<i>R</i> Lobulus paracentralis	0,000061
<i>L</i> G. precentralis	<i>L</i> G. lingualis	0,000067
<i>L</i> mPFC	<i>L</i> G. occipitalis superior	0,000082

Tabelle 12: Haupteffekt des Faktors Zeit für das AAL-Atlas-System.^a nach p-Werten sortiert, wobei alle p-Werte robust gegenüber multipler Testung (AFDR) sind.
Abkürzungen: G. Gyrus; ACC Area cingularis anterior des G. cinguli; mPFC medialer präfrontal Kortex.

3.5.3.4 FCDM Analysen-Intervention × Zeit Effekt

Bei den Analysen des Interaktionseffekts zeigte sich allgemein eine schwache Änderung der funktionellen Konnektivitätsdichte. Nur für die Region des linken ACC änderte sich die Konnektivitätsdichte signifikant ($F = 12,22$; $p = 0,024$). Dabei änderte sich die Konnektivitätsdichte unter Kortisol weniger als unter Placebo (siehe Abbildung 29).

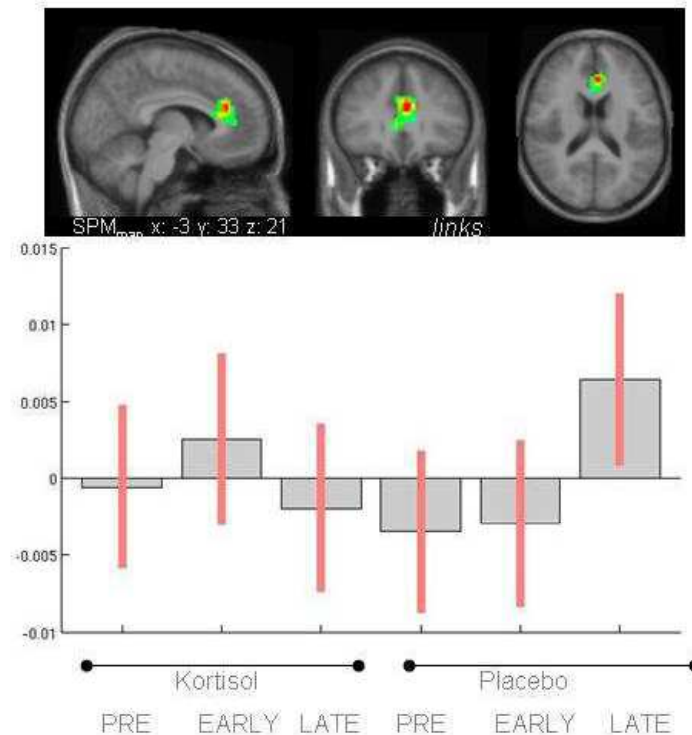


Abbildung 29: Signifikanten Intervention × Zeit Effekte für die Änderung der Konnektivitätsdichte im linken ACC. Die Änderung der Konnektivität je Bedingung und Zeitpunkt ist im Balkendiagramm dargestellt. Die Y-Achse gibt den Wert der Kontrastschätzung an (engl. contrast estimate)

4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde in einem kombinierten EEG/fMRT-Experiment zum einen untersucht, ob die funktionelle Konnektivität in Ruhe das Ergebnis des Dex/CRH-Test in gesunden Probanden vorhersagen kann, und zum anderen, ob die fMRT-Ruhenetzwerkaktivität durch eine experimentelle Modulation des Kortisolspiegels verändert werden kann. Beide Fragestellungen ergänzen sich hierbei.

Einerseits ist bekannt, dass die HPA-Achse durch ihre Verbindungen zum limbischen Kortex einer ständigen Kontrolle und Modulation unterliegt. Deshalb lag der Fokus der ersten Fragestellung auf der Herstellung einer Verbindung zwischen der Netzwerkintegrität solcher limbischer und paralimbischer Regionen und der Stressreagibilität, wie sie im Dex/CRH-Test abgebildet wird. Andererseits stellt Kortisol selbst ein wichtiges regulatorisches Hormon im Organismus dar, das auch die neuronale Aktivität beeinflusst. Der Fokus der zweiten Fragestellung war die Quantifizierung solcher Effekte. Die funktionelle Konnektivität wurde dabei durch verschiedene Analyseansätze untersucht: durch die Seed-Methode (sogenannte seedbasierte Ruhenetzwerke), durch Kreuzkorrelationsanalysen (ausgewählter Regionen und eines Atlas-Systems) und durch FCDM, einer neueren Methode zur Kartierung der funktionellen Konnektivität pro Voxel.

Im Rahmen dieser Diskussion sollen die im Rahmen dieser Arbeit resultierenden Befunde zu den genannten Untersuchungsschwerpunkten in den derzeitigen Wissenstand der humanen Stressforschung eingeordnet werden. Insbesondere sollen die Ergebnisse im Hinblick auf jene Forschung diskutiert werden, die sich zum Ziel gesetzt hat, die kortikalen Mechanismen der Kontrolle der HPA-Achse zu untersuchen. Abschließend wird der Beitrag der vorliegenden Arbeit zur humanen Grundlagenforschung der Stressregulation kritisch bewertet.

4.1 Der Dex/CRH-Test - ein Fenster zum Gehirn in der Erforschung der humanen Stressregulation

Die im Rahmen dieser Studie untersuchten gesunden männlichen Probanden zeigten eine erwartungsgemäße Variabilität ihrer neuroendokrinen Reaktion während des Dex/CRH-Tests. Dies bildete die Grundlage für die durchgeführten Korrelationsanalysen der neuroendokrinen Parameter ($\text{Kortisol}_{\text{AUC}}$ und ACTH_{AUC}) mit der funktionellen Konnektivität des Gehirns in Ruhe, deren Bedeutung im Abschnitt 4.4 diskutiert wird.

4.1.1 Möglichkeiten der Messung der HPA-Achsen-Integrität

Zur Untersuchung der Aktivität der HPA-Achse gibt es eine Vielzahl an Möglichkeiten, wobei üblicherweise die Kortisolkonzentration gemessen wird (Miller et al., 2007). Freies und gebundenes Kortisol kann im Speichel, im Blut, im Urin und in der Zerebrospinalflüssigkeit nachgewiesen und quantifiziert werden, wobei jede dieser Methoden ein spezifisches (metabolisches) Zeitfenster abdeckt (Baum und Gruneberg, 1997):

Die Kortisolkonzentration in Blut und Speichelproben spiegeln dabei die Aktivität der HPA-Achse in den vergangenen 10 bis 60 Minuten wieder, wohingegen die Urinproben, die meistens in einer 15- bzw. 24-Stunden-Sammelprobe bestimmt werden, einen Summenwert der Aktivität der HPA-Achse im Tagesdurchschnitt liefern (Miller et al., 2007). Bei der Bestimmung der Kortisolkonzentration sollte dabei beachtet werden, dass die natürliche Ausschüttung über den Tag verteilt pulsartig verläuft. Einige Studien bestimmen deshalb die Integrität der HPA-Achse über die Kortisolkonzentration nach dem Aufwachen (engl. cortisol awakening response, kurz CAR), hierbei stellt die CAR den natürlichen Anstieg des Kortisols ~ 20 bis 30 Minuten nach dem Erwachen dar (Fries et al., 2009). Andere Studien bestimmen den Kortisolgehalt zu mehreren Zeitpunkten, um ein Tagesprofil zu erstellen und damit Rückschlüsse auf die Aktivität der HPA-Achse ziehen zu können.

Ein alternativer Ansatz dazu ist die Untersuchung der HPA-Achsenaktivität durch eine hormonelle Stimulation. Dafür können Moleküle wie CRH, ACTH, oder auch das künstliche GC Dexamethason in das System experimentell eingeführt und die dadurch veränderte Ausschüttung der Hormonprodukte entlang der Stressachse gemessen werden (Deuschle et al., 1998; Ehnvall et al., 2004; Heuser et al., 1994a; Miller et al., 2007).

Verschiedene Studien haben dabei die besondere Sensitivität der Kombination aus der Dexamethasonsuppression, wie sie auch im Rahmen des Dexamethasonsuppressions-Test (DST) (Holsboer et al., 1982; Holsboer, 1983) verwendet wird, und der Stimulation durch CRH im Dex/CRH-Test zur Untersuchung der Integrität der HPA-Achse gezeigt (Heuser et al., 1994a; Holsboer et al., 1995; Ising et al., 2005b). Da bei Gesunden die Suppression mittels Dexamethason der ACTH- und in Folge auch der Kortisolausschüttung vor allem über die GR der Hypophyse wirkt, wird eine unvollständige Suppression als Anzeichen für einen funktionellen Defekt in der HPA-Achse gesehen (Holsboer, 2000; Ising et al., 2007; Zobel et al., 2001). Der Grad der Kortisolsuppression nach Dexamethasoneinnahme bzw. das individuelle Antwortprofil auf die CRH-Stimulation kann die biologischen Unterschiede bei den einzelnen Probanden bzw. Patienten wiedergeben (Holsboer et al., 1995; Ising et al., 2005a).

4.1.2 Genetische Komponenten der HPA-Achse

Das individuelle Muster der Aktivität der HPA-Achse und deren unterschiedliche Anfälligkeit für Störungen lässt eine genetische Komponente der Stresskapazität vermuten. Eine einfache Methode, um genetische Einflüsse zu untersuchen, sind Studien mit eineiigen und zweieiigen Zwillingen. Dabei kann zwischen Studien unterschieden werden, die die Integrität der HPA-Achse im Grundzustand testen, und solchen, die den Regulationseffekt nach Stimulation untersuchen (Wust et al., 2004). Jene Studien zur Funktion der HPA-Achse im Grundzustand zeigten eine mäßige genetische Komponente der Kortisolkonzentration im Plasma, ermittelt an ein- und zweieiigen Zwillingen (Maxwell et al., 1969; Meikle et al., 1988; Wust et al., 2000). Unter Verwendung einer Power-Analyse, unter dem Einschluss von fünf Zwillings-Studien, fanden Bartels et al. (2003) in einer Metaanalyse eine Erblichkeit der Kortisolkonzentration von 62% und kritisierten gleichzeitig die zu geringe Probandenanzahl der meisten Zwillingsstudien, um verlässlich genetische Faktoren von Umwelteffekten trennen zu können. Studien, die die genetische Beeinflussung der HPA-Achse anhand von Stimulationstests untersuchten, kamen zu gegensätzlichen Ergebnissen (Federenko et al., 2004; Franz et al., 2010; Kirschbaum et al., 1992a; Steptoe et al., 2009).

Klare genetische Zusammenhänge gibt es dagegen für die GR-Polymorphismen (Binder, 2010; DeRijk et al., 2002). Einen genetischen Zusammenhang zwischen einem Einzelnukleotid-Polymorphismus (engl. single nucleotide polymorphismen, kurz SNP) und der Vulnerabilität für wiederholte depressive Episoden bzw. der Wirksamkeit einer pharmakologischen Behandlung fanden Binder et al. (2004) bei der Untersuchung des FKBP5, eines GR-regulierenden Moleküls. Dabei zeigte sich, dass eine bestimmte Ausprägung eines Gens zu einer erhöhten Expression von FKBP5 führt, was wiederum zu einer erhöhten GR-Anpassungsfähigkeit führt, die wiederum die Regulation der HPA-Achse beeinflusst (Binder et al., 2009).

Eine genetische Prädisposition für Dysfunktionen der HPA-Achse bestätigen auch Studien, die Personen untersuchten, die eine hohe Vulnerabilität für psychiatrische Krankheiten haben, ohne akut krank zu sein (engl. high risk person, kurz HRP). In diesen HRP wurde eine Kortisolkonzentration im Dex/CRH-Test gefunden, deren Wert zwischen den durchschnittlichen normalen Werten von gesunden Probanden ohne genetische Vorbelastung und den Werten von Patienten mit Stress-assoziierten Krankheiten lagen (Holsboer et al., 1995; Modell et al., 1998). Dabei zeigte sich, dass höhere Werte im Dex/CRH-Test bei gesunden HRP mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko einhergehen (Ising et al., 2005c).

Aber nicht nur in Patienten und Personen mit genetischer Vorbelastung, sondern auch innerhalb gesunder Kontrollen, kann eine individuelle Variabilität der Produktion und Ausschüttung von Kortisol und ACTH mittels des Dex/CRH-Tests

gefunden werden. Entscheidend ist dabei, dass die Variabilität bei Gesunden im Vergleich zu akut Erkrankten zwar geringer ausfällt, aber dennoch eine biologische Bedeutung zu haben scheint und nicht nur eine Ungenauigkeit der Messung widerspiegelt. Diese Variabilität auch in gesunden Probanden ermöglicht daher die Suche nach spezifischen prädiktiven Markern im Gehirn.

4.1.3 Was macht den Dex/CRH-Test zum Fenster des Gehirns?

Wie einleitend beschrieben, kann mit dem Dex/CRH-Test zum einen die Funktionalität der HPA-Achse untersucht werden (vgl. 1.1.6), und zum anderen gibt der Test möglicherweise auch Hinweise auf die Funktionalität der kortikalen Regulation (Heuser et al., 1994a; Holsboer und Ising, 2010; Ising et al., 2005b). Rückschlüsse über kortikale Einflüsse auf die HPA-Achse wurden dabei jedoch vor allem über die Messung der peripheren physiologischen Auswirkungen gezogen. Dabei können sowohl pharmakologische als auch psychologische Methoden verwendet werden (vgl. 1.3.6 für Möglichkeiten im humanen Bereich der funktionellen Bildgebung), um die HPA-Achse zu stimulieren. Welche Mechanismen dabei genau im Gehirn dazu beitragen, dass die HPA-Achse entsprechend ausgelenkt und nach Konfrontation mit einem Stressor wieder normalisiert wird, ist bisher im Menschen nur unzureichend erforscht.

Zu dieser Komplexität kommt hinzu, dass es mit der Methode der funktionellen Bildgebung nicht ohne weiteres möglich ist, jene Regionen, die die Stresssituation erfassen von denen zu trennen, die dann die eigentliche Reaktion der HPA-Achse veranlassen und koordinieren. Die Rückschlüsse über Mechanismen des Dex/CRH-Tests im Gehirn beruhen auf folgenden Annahmen (Holsboer, 1989; Holsboer-Trachsler et al., 1991): Wenn die Kortisolproduktion durch Blockade der ACTH-Ausschüttung an der Hypophyse supprimiert wird, reduziert sich nach einer gewissen Zeit das Kortisol für die negative Rückkopplung im Gehirn deutlich. Da der Hypothalamus und alle GR und MR beinhaltenden Gehirnstrukturen kein Kortisolfeedback erhalten, wird eine Zeit lang CRH und auch AVP hochreguliert, um die Kortisolhomöostase im Körper wieder herzustellen. Durch die Blockade der weiterführenden Signalkaskade an der Hypophyse durch Dexamethason kommt es zunächst zu keiner ACTH-Ausschüttung.

Erst durch die zusätzliche CRH-Injektion während des Dex/CRH-Tests kann die Blockade an der Hypophyse überwunden werden und ACTH wieder ausgeschüttet werden und in Folge auch Kortisol. Dies führt wiederum zum negativen Feedback ins Gehirn und einer Normalisierung der Funktion der HPA-Achse. Bei gesunden Menschen kommt es zu einer geringeren CRH-Hochregulation nach Blockade durch Dexamethason, was sich durch eine geringere ACTH- und Kortisolausschüttung nach der CRH-Gabe ableiten lässt. Dies bedeutet wiederum, dass die kortikalen Kontrollmechanismen der HPA-Achse intakt sind. Die Kontrollmechanismen werden durch GR und MR in verschiedenen Gehirnregionen vermittelt. Bei intakter GR und MR Funktion kann ein gewisses

negatives Feedback auch noch bei geringer Kortisolkonzentration aufrecht erhalten werden. Bei gestörter Rezeptorfunktion bricht das negative Feedback so stark ein, dass es zu einer starken Gegenregulation von CRH und AVP führt. Bei Patienten mit stressbedingter Erkrankung kommt es vermutlich daher zu einer massiven CRH- und AVP-Ausschüttung im Dex/CRH-Test.

Der Vorteil des Dex/CRH-Tests ist also, dass die Funktionalität des negativen Feedbacks der HPA-Achse untersucht werden kann. In Anbetracht der Tatsache, dass für den Gesundheitsstatus die effiziente negative Rückkopplung des Kortisols ins Gehirn fast wichtiger zu sein scheint, als die Ausschüttung von Kortisol während der Stressreaktion selbst, deutet darauf hin, dass eine Variabilität des Dex/CRH-Tests bei Gesunden nicht nur den aktuellen Status der HPA-Achse wiedergibt, sondern auch unterschiedliche Stressreaktionstypen klassifizieren könnte. Zur Untersuchung der Funktionalität der HPA-Achse und zur Aufdeckung der Variabilität der HPA-Achse innerhalb des gesunden Probandenpools wurde deshalb der Dex/CRH-Test allen anderen Methoden vorgezogen.

Der mögliche Einwand, dass die Variabilität im Dex/CRH-Test bei Gesunden nicht unterschiedliche Stressreaktionstypen bzw. generell unterschiedliche Funktionalitäten der HPA-Achse beschreibt, sondern lediglich akute oder äußere Einflüsse, wie konsumierte Nahrungsmittel, wiedergibt, kann entkräftet werden, da vor Einführung des Tests in den klinischen Alltag solche Störfaktoren genauer untersucht wurden (Kunzel et al., 2003). Durch eine Untersuchung an 235 depressiven Patienten konnte gezeigt werden, dass Faktoren, die dafür bekannt sind, die HPA-Achse zu beeinflussen, wie Koffein oder Nikotin, aber auch das Körpergewicht, keinen Effekt auf die Ergebnisse des Dex/CRH-Test haben. In der vorliegenden Arbeit wurden trotzdem, auch aus Gründen der möglichen Einflussnahme dieser Faktoren auf das fMRT-Signal, nur nichtrauchende, normalgewichtige Probanden eingeschlossen, die an den gegebenen Messtagen auf koffeinhaltige Lebensmittel verzichten konnten.

Zusammenfassend wurde der Dex/CRH-Test als zentrale endokrinologische Messung eingesetzt, um die Reagibilität der Probanden auf Stress indirekt zu erfassen. Die fMRT-Messungen dienten hierbei dazu, die Integrität bestimmter Netzwerke zu quantifizieren und zu prüfen, ob diese die Feedbackvorgänge während des Dex/CRH-Tests vorhersagen können.

4.2 Mögliche Einflüsse der Persönlichkeitsmerkmale auf die Stresskapazität eines Menschen

Es wurden in dieser Arbeit keine starken Korrelationen zwischen den Hormonwerten und den Werten der Selbstbefragungsbögen gefunden. Dies fügt sich insgesamt in das Bild der bisher dazu veröffentlichten Studien ein, die auch auf größere Stichproben untersuchten, ob es einen direkten Zusammenhang zwischen Persönlichkeitsmerkmalen und Kortisolkonzentration im Blut oder

Speichel gibt (Nater et al., 2010; Schommer et al., 1999) und hierzu zum Teil widersprüchliche Ergebnisse fanden.

Die im Rahmen dieser Arbeit ermittelte signifikante Korrelation zwischen BDI und Kortisol während des Dex/CRH-Tests war auf leicht erhöhte Werte (im Bereich des Normalen) von vereinzelt Probanden zurückzuführen. Entsprechend war die Korrelation im Spearman-Rang-Korrelationstest nur noch auf Trendniveau nachweisbar (vgl. Punkt 3.3). Eine schwache Korrelation zwischen Kortisolwerten und der subjektiven Depressionsskala (BDI) ist jedoch trotzdem vorstellbar, da sowohl Personen mit einer voll ausgeprägten Depression, als auch HPR, erhöhte Kortisol-Werte im Dex/CRH-Test ausweisen (Holsboer et al., 1995; Ising et al., 2005b). Der Zusammenhang zwischen Dex/CRH-Test und depressiven Symptomen scheint sich also bereits im subklinischen Bereich anzudeuten. Keiner der untersuchten Probanden war an einer Depression erkrankt (der Cutoff-Wert des BDI liegt üblicherweise bei ≤ 14), jedoch zeigten einzelne Probanden Werte bis 7.

Die Aussagekraft einer Korrelation zwischen Persönlichkeitsmerkmalen und neuroendokrinen Parametern ist bei einer Stichprobe von 20 Probanden statistisch gering. Für Untersuchungen, die sich explizit für die Verknüpfung der Integrität der HPA-Achse mit bestimmten Persönlichkeitsmerkmalen interessieren, empfiehlt es sich daher, einen großen Probandenpool zu untersuchen. Des Weiteren wäre ein bezüglich seiner Persönlichkeitsmerkmale bzw. depressiven Symptomatik heterogener Probandenpool günstig, um auch graduelle Abstufungen untersuchen zu können. Es war jedoch nicht primär das Ziel dieser Arbeit, einen Zusammenhang zwischen Persönlichkeitsmerkmalen und HPA-Achse zu untersuchen. Im Wesentlichen sollten stattdessen eine akute oder allgemein starke Ängstlichkeit bzw. Depressivität im Sinne einer Major Depression ausgeschlossen werden, um eine bezüglich affektiver Erkrankungen eine gesunde Stichprobe zu erhalten.

4.3 Bedeutung der Analysen der Ruhenetzwerke in der bildgebenden Forschung

In der vorliegenden Arbeit änderten sich die Ruhenetzwerke des Gehirns durch den Einfluss veränderter Kortisolmilieuzustände des Körpers. Des Weiteren konnte ein Zusammenhang zwischen der Stärke der funktionellen Konnektivität bestimmter Areale in den Ruhenetzwerken des Gehirns und der neuroendokrinen Antwort im Dex/CRH-Test gefunden werden.

Für diese Arbeit wurde die fMRT-BOLD-Aktivität in Ruhe gemessen, ohne Anwendung eines Paradigmas. Solche Ruhe-fMRT-Messungen haben in den letzten Jahren enorm an Bedeutung in der MRT-Forschung und der kognitiven Neurowissenschaften zugenommen (Buckner et al., 2008; Fox und Raichle, 2007; Heine et al., 2012; Rosazza und Minati, 2011). Die Ursachen dafür sind vielfältig:

Erstens ist die Ruhe-fMRT-Aktivität hochstrukturiert und bildet wichtige Aspekte der funktionalen Neuroanatomie auf einer makroskopischen Skala ab (Cole et al., 2010). Diese Strukturen basieren, wie einleitend beschrieben, auf zeitlich parallelen BOLD-Signal-Schwankungen, die bereits in Ruhe als netzwerkartige Verbände von Regionen existieren.

Zweitens sind Ruhe-fMRT-Daten auch ohne jegliche Mitarbeit der Probanden aufnehmbar (Cole et al., 2010). Daher kann die Technik in Kleinkindern, anästhesierten Menschen, oder Patienten mit schweren kognitiven oder physischen Beeinträchtigungen angewandt werden (Boveroux et al., 2010; Fransson et al., 2007; Greicius et al., 2007). Ähnlich wie der Dex/CRH-Test eine Stressreaktion indirekt abbildet, sind auch Ruhe-fMRT-Muster prädiktiv für typische Reaktionsmuster unter bestimmten Aufgaben oder Bedingungen.

4.3.1 Prädiktion physiologischer und pathologischer Zustände aus Ruhe-fMRT-Messungen

Den Ruhenetzwerken wurden schon in anderen Studien Prädiktionspotential zugeschrieben (Broyd et al., 2009; Greicius, 2008; Greicius et al., 2004; Koch et al., 2012; Rombouts und Scheltens, 2005). Ruhenetzwerke in gesunden Probanden gelten als relativ stabil, sowohl innerhalb als auch zwischen Individuen (Damoiseaux et al., 2006; Shehzad et al., 2009), wobei auf regionaler Ebene trotzdem eine deutliche individuelle Variabilität verbleibt. Es wurde von Glahn et al. (2010) auch gezeigt, dass bestimmte Charakteristika der Ruhenetzwerke genetisch basiert sind. Dadurch bekommen Studien, die entwicklungs- oder krankheitsbedingt veränderte Ruhenetzwerke untersuchen nochmals eine weitere Bedeutung. Veränderte Muster in den Ruhenetzwerken zeigen sich im Zusammenhang mit psychiatrischen Krankheiten (Anand et al., 2009; Greicius et al., 2007; Sheline et al., 2010) bzw. auch schon in HRP für psychiatrische Krankheiten (Liu et al., 2010). Auch bei neurodegenerativen Krankheiten konnten Veränderungen der Ruhenetzwerke beobachtet werden (Filippi und Agosta, 2011; Greicius et al., 2004; Koch et al., 2012; Rombouts und Scheltens, 2005). Die spezifische Änderungen der Ruhenetzwerke in pathologischen Zuständen und ihre Normalisierung bei Verbesserung des Gesundheitszustandes, sind trotz des rein korrelativen Ansatzes, ein sehr vielversprechend Ansatz für einen Biomarker.

Aber auch bei gesunden Menschen können sich entwicklungsbedingt oder durch physiologische Vorgänge charakteristische Muster der Ruhenetzwerke ergeben. Zunächst sei dazu auf die Abhängigkeit der Muster vom Alter verwiesen. Inzwischen wurde mehrfach gezeigt, dass sich die Ruhenetzwerke je nach Altersgruppe (Neugeborene, Heranwachsende sowie Senioren) unterscheiden (Damoiseaux et al., 2006; Fransson et al., 2007; Koch et al., 2010; Luchinger et al., 2011). Als physiologische Einflüsse sind vor allem unterschiedliche Vigilanzzustände zu nennen. Dabei konnte eine erhebliche Änderung der funktionellen Konnektivität bereits beim Übergang vom

Wachzustand in das Schlafstadium 1 gefunden werden (Kaufmann et al., 2006; Sämann et al., 2011; Spoormaker et al., 2010). In tieferen Schlafstadien zeigen sich dann weitere typische Konnektivitätsänderungen mit großen Effektstärken (Kaufmann et al., 2006; Sämann et al., 2011; Spoormaker et al., 2010). Diese spezifischen Änderungsmuster sind auch Grundlage für derzeitige Versuche, Algorithmen zu entwickeln, die (idealerweise vollautomatisch) Schlafstadien anhand der fMRT-Daten klassifizieren können (Tagliazucchi et al., 2012). Trotz der Vielzahl an Studien, die sich mit den Prädiktionsmöglichkeiten aus dem Ruhe-fMRT befassen, ergeben sich wegen der biophysikalischen Grundlage des BOLD-Signals, das die neuronale Aktivität nur indirekt widerspiegelt, und wegen der relativ geringen zeitlichen Auflösung von BOLD-fMRT auch deutliche Einschränkungen des Informationsgehaltes von Ruhe-fMRT-Daten.

4.3.2 Einschränkungen bezüglich der Aussagekraft der Ruhenetzwerke

Eine Auswahl an schon in der Literatur beschriebenen verschiedenen Prädiktorfunktionen der Ruhenetzwerke wurde im vorangehenden Abschnitt vorgestellt. Allerdings ist bei den krankheitsbedingten Veränderungen noch nicht abschließend geklärt, ob die Änderung der funktionellen Konnektivität erst durch die Krankheit entsteht, oder ob eine zuvor bestehende veränderte funktionelle Konnektivität die Vulnerabilität für die Krankheit erhöht. Daraus folgt auch, dass Ruhenetzwerke bzw. deren Veränderung derzeit nicht ohne weiteres als diagnostische Methode verwendet werden können (Cole et al., 2010; Greicius, 2008), auch wenn die Muster der Änderungen innerhalb eines Störungsbildes einheitlich sind.

Die Analysen der funktionellen Konnektivitäten erlauben allerdings nicht die Bestimmung der Richtung der jeweiligen Interaktion zwischen den Gehirnregionen (van den Heuvel und Pol, 2010a). Dies bedeutet, dass gefundene Veränderungen der funktionellen Konnektivität zwar eine Netzwerkänderung beschreiben, es aber nicht möglich ist, diese Änderungen allein aus den BOLD-fMRT-Daten heraus genauer zu charakterisieren. Trotzdem wurden inzwischen wichtige Zusammenhänge zwischen der molekularen Signaltransmission und BOLD-fMRT hergestellt, wie beispielsweise zwischen spektroskopisch gemessenem Glutamat und der DMN-Aktivität (Kapogiannis et al., 2012). Grundsätzlich ist anzunehmen, dass zahlreiche Rezeptorsysteme die funktionelle Konnektivität zwischen zwei Gehirnregionen beeinflussen.

4.3.3 Biologische Relevanz der Ruhenetzwerke

Wie in der Einleitung schon beschrieben, gibt es verschiedene Theorien bezüglich der funktionellen Bedeutung der Ruhenetzwerke, oder allgemeiner der korrelierten bzw. anti-korrelierten spontanen BOLD-Fluktuation. Im Hinblick auf den Sinn der Ruhenetzwerkuntersuchung in dieser Studie bleibt zu betonen, dass die

spontanen Aktivierungsmuster zwischen Individuen variieren. Auch wenn die großen Muster zwischen Individuen stabil sind, zeigen nicht in jeder Person dieselben Neuronenverbände gleichzeitig Synchronizität (Buckner et al., 2008; Fox und Raichle, 2007; Shehzad et al., 2009). Eine Deutungsmöglichkeit ist, dass Netzwerke in Ruhe gelernte Verhaltensmuster bzw. Koordinationsanforderungen „trainieren“, um im Bedarfsfall effizienter reagieren zu können (Corbetta, 2012; Duan et al., 2012).

Hierzu passen auch Befunde, dass funktionale Konnektivität in Ruhe die Stärke der Konnektivität während des Stimulus vorhersagt (Boly et al., 2007; Greicius und Menon, 2004; Sadaghiani et al., 2009). Dies könnte für die Ruhenetzwerke während oder nach Stress ebenso gelten. Bekannt ist, dass die funktionelle Aktivierung nach einer größeren Anforderung an das System, je nach individueller Stress-Regulationfähigkeit, zu einer nachhaltigen Beeinflussung des Stressregulationssystems führt (Heim et al., 2008) und auch zu langfristig veränderten Ruhenetzwerken und endokrinologischen Auswirkungen bzw. Folgeerkrankungen (Burke et al., 2005; Stetler und Miller, 2011). Es ist daher anzunehmen, dass die individuelle Kapazität mit Stress umzugehen im Gehirn, speziell in den Ruhenetzwerken, kodiert ist. Da Ruhenetzwerke etwas sehr ursprüngliches im Gehirn sind, sollten kortisolabhängige Änderungen dieser Netzwerke am besten ohne künstliche Beeinflussung durch Aufgaben untersucht werden.

Die Eigenschaft der Ruheaktivität, die Reaktion auf Stimuli vorherzusagen bzw. zu begünstigen, war entscheidend für die erste Fragestellung. Für diese wurde nämlich davon ausgegangen, dass die Ruhe-fMRT auch Informationen über typische Reaktionsmuster unter Stress enthalten, einschließlich der Prozesse während der Aktivierung der Stressreaktion und der Beendigung der Stressreaktion durch negatives Feedback.

4.4 Bedeutung der funktionellen Konnektivität in Ruhenetzwerken als Prädiktor der Stresskapazität in gesunden Probanden

Die erste Fragestellung war, ob Gehirnregionen, von denen vermutet und berichtet wird, dass sie in an der kortikalen Kontrolle der Homöostase der Stresshormone beteiligt sind (vgl. Einleitung), Muster in den Ruhenetzwerken hinterlassen, die charakteristisch für die individuelle Regulation der HPA-Achse sind.

Es konnte im Rahmen dieser Arbeit in der Tat ein Zusammenhang zwischen der Stärke der funktionellen Konnektivität in den Ruhenetzwerken und dem Dex/CRH-Profil junger, gesunder, männlicher Probanden gefunden werden. Die Analysen verschiedener seedbasierter Netzwerke zeigten dabei regionale Schwerpunkte für einen Zusammenhang mit den Stresshormonen, besonders in (para-)limbischen Regionen, wobei der stärkste Effekt für die Konnektivität zwischen linkem und rechtem Hippokampus gefunden wurde. Die gefundene Korrelation zwischen der Stärke der funktionellen Konnektivität, ins Besondere des

Hippokampus, und dem Dex/CRH-Profil ist insbesondere vor dem Hintergrund der bestehenden Modelle zur kortikalen Regulation der HPA-Achse bemerkenswert.

Eine Rolle des Hippocampus bei der Regulation der HPA-Achse ist in der Literatur gut beschrieben, besonders eine Funktion als Sensor für Kortisol im Rahmen der negativen Feedbackregulation ist vielfach berichtet (Dedovic et al., 2009b; Frodl und O'Keane, 2012; Herman, 2009; Jacobson und Sapolsky, 1991). In bildgebenden Studien wurde der Hippokampus auch umfangreich auf seine Funktion bzw. Dysfunktion im Kontext von stressassoziierten Krankheiten untersucht (Campbell et al., 2004; Dedovic et al., 2009b; Sheline et al., 2002).

Dabei konnte gezeigt werden, dass Hippokampus abhängige Funktionen, wie der Abruf von Fakten aus dem deklarativem Gedächtnis, bei Patienten mit Stress assoziierte Krankheiten, während einer akuten Phase gestört sind (Lupien und McEwen, 1997). Die funktionellen Einschränkungen beruhen dabei sehr wahrscheinlich auf strukturellen Veränderungen des Hippokampus, wie sie in Subgruppen von Patienten, insbesondere bei chronisch erkrankten Patienten, gezeigt werden konnte (McEwen, 2005). Die strukturellen Veränderungen betreffen zum Beispiel ein verändertes Hippokampusvolumen, aber auch wie post mortem an Patienten festgestellt, molekulare Veränderungen in der Rezeptorendichte (GR/MR) an den Neuronen im Hippokampus (Campbell et al., 2004; McKinnon et al., 2009). Auch bei ersterkrankten Patienten konnten bereits Veränderungen des Hippokampus gezeigt werden (Gilbertson et al., 2002; Kohli et al., 2011), wobei Veränderungen des Hippokampus nicht spezifisch für Depression sind, sondern auch bei einer Vielzahl neuropsychiatrischer Erkrankungen gefunden werden. Die Neurotoxizitätshypothese besagt, dass der Hippokampus erst sekundär durch den hohen Kortisolspiegel (Sapolsky et al., 1986), möglicherweise auch durch exzessive Glutamatexposition, geschädigt wird (Gruber et al., 2012). Umgekehrt könnte auch eine hippokampale Dysfunktion dazu führen, dass es zu einem Hyperkortisolismus im Organismus kommt und antidepressive Therapien weniger ansprechen (Soriano-Mas et al., 2011), so dass eine Art Teufelskreis entsteht.

Erst seit einigen Jahren werden bildgebende Methoden dazu verwendet stressphysiologische Experimente durchzuführen. Indem psychologischer Stress bei Probanden ausgelöst wurde, konnte eine Deaktivierung des Hippokampus und des orbitofrontalen Kortex zu Beginn der Stressreaktion gezeigt werden (Pruessner et al., 2008). Dabei folgte auf eine stärkere Deaktivierung in Reaktion auf den Stressor eine höhere Kortisolausschüttung während des Tests (Pruessner et al., 2008).

In der hier vorgestellten Arbeit wurde die funktionelle Konnektivität gemessen, ohne dass akuter Stress bei den Probanden erzeugt wurde, weshalb davon ausgegangen werden kann, dass das Gehirn in einem nicht besonders belasteten Ruhezustand untersucht wurde. Der Einwand, dass die MRT-Umgebung an sich nicht als vollständiger Ruhe- oder Grundzustand begriffen werden kann, sondern vielmehr eine Stresssituation an sich darstellt (Muehlhan et al., 2011; Peters et al.,

2011), ist an sich berechtigt. Allerdings bezieht sich die dort gemessene Aktivität der HPA-Achse auf die Antizipation einer MRT-Messung bzw. auf HPA-Parameter, die während oder nach einer MRT-Messung bei MRT-naiven Probanden gemessen wurden (Dantendorfer et al., 1997; Tessner et al., 2006). Für die hier durchgeführte Studie waren alle Probanden mindestens einmal im MRT und daher an die Umgebung sowie den Ablauf einer Untersuchung habituiert, weshalb nicht davon auszugehen ist, dass die Probanden während der Untersuchungen der Studie durch die MRT-Umgebung stressbelastet waren (Tessner et al., 2006). Viel entscheidender für den hier gefundenen Zusammenhang zwischen funktioneller Konnektivität und Dex/CRH-Profil ist jedoch der physiologische Prozess, der dem Dex/CRH-Test zugrunde liegt. Der Test besteht aus einem 2-stufigem Verfahren (Heuser et al., 1994a):

Zunächst wird mit der Einnahme von Dexamethason die Produktion und Ausschüttung von Kortisol auf Ebene der Hypophyse, unterdrückt. Dieser Entzug von Kortisol wird von verschiedenen Gehirnregionen, die eine hohe Dichte an GC-Rezeptoren haben, wahrgenommen. Eine erste kompensatorische Gegenmaßnahme des Organismus ist in Folge die erhöhte Ausschüttung von CRH und AVP aus dem Nucleus paraventricularis (PVN) im Hypothalamus. Dies geschieht im Wesentlichen, um die Hypophyse anzuregen, die (Signal-)Kaskade der Kortisolproduktion durch Produktion und Ausschüttung von ACTH wieder hochzuregulieren. Die Ausschüttung von ACTH bleibt aber zunächst durch die Blockade des vorhandenen Dexamethason in der Hypophyse inhibiert (Holsboer, 1983; Holsboer-Trachsler et al., 1991).

Im zweiten Schritt wird diese Inhibition durch die Injektion des CRH aufgehoben. Dies führt dazu, dass das ACTH und in Folge dessen auch Kortisol wieder vermehrt produziert und ausgeschüttet werden. Die Frage, welche regulatorischen Prozesse über den Dex/CRH-Test abgegriffen werden, ist deshalb nicht ganz einfach zu beantworten. Es scheint, als ob der Test die Sensitivität des CRH- und AVP-Systems gegenüber Änderungen des GC-Status indirekt spiegelt. Die Art, wie dieses Neuropeptidsystem agiert, hängt dabei von der Stärke bzw. dem Typ des Stressors ab (Scott und Dinan, 1998). Vor dem Hintergrund, dass der PVN durch permanenten limbischen, paralimbischen und mPFC-Input moduliert wird, wird angenommen, dass die Integrität eines Hippokampus-basierten Kontrollnetzwerkes offensichtlich für die Modulation des negativen Feedbacks bzw. dessen Wegfall während des Dex/CRH-Tests besonders relevant ist (Kiem et al. im Review).

Möglicherweise wird, als umgekehrte Schlussfolgerung für die Interpretation des Dex/CRH-Tests, während der Suppression des Kortisols vor allem das negative Feedback des Hippokampus beeinflusst. Dies bedeutet aber nicht, dass die Feedbackfunktion bzw. GR- oder MR-Integrität in anderen Gehirnregionen weniger wichtig ist – auf Ebene der BOLD-basierten Ruhenetzwerke war das Ergebnis für den Hippokampus jedoch relativ prominent. Und auch die Korrelation mit ACTH zeigte ein sehr ähnliches hippokampales Ergebnis (siehe Punkt 3.4.3).

Zusätzlich war statistisch das Ergebnis für den Hippokampus äußerst robust und zeigte beispielsweise auch bei Korrektur für das gesamte Gehirn noch eine Signifikanz.

Im Gegensatz zum Hippokampus wird die Amygdala als eine eher HPA-Achsen stimulierende Schaltstelle im Kontrollsystem gesehen (Dedovic et al., 2009b). Dies ist, im Kontext der vorliegenden Studien von zentralem Interesse, da die Seedregion der Amygdala eine der beiden Seedregionen ist, die eine positive Korrelation zu ACTH zeigte (vgl. Punkt 3.4.2). Dabei lag das signifikante Cluster des Amygdala-basierten Netzwerkes im kontralateralen rechten Hippokampus, was auf einen direkten Modulationsweg hinweisen könnte (Kiem et al. im Review). Wie weiter unten noch en détail diskutiert (vgl. Punkt 4.5), zeigen auch die Analysen der Interseed-Konnektivitäten gehäuft Hippokampus/Amygdala-Verknüpfungen.

Im Vergleich dazu konnten keine besonders starken Interaktionen zwischen cingulärem Kortex, mPFC und limbischen Strukturen gefunden werden. Damit konnten in der vorliegenden Arbeit die Verknüpfung der Konnektivität zwischen Amygdala und mPFC/ACC und dem Kortisolwert, wie von Veer et al. (2011b) berichtete, nicht bestätigt werden. Auch wenn der konzeptionelle Ansatz der Arbeit ähnlich ist, können die Studien nicht direkt verglichen werden, da unterschiedliche Kortisolmarker verwendet wurden.

Um einen direkten Vergleich der Ergebnisse der Bildgebung zu ermöglichen, wurde zusätzlich ein bilateraler Amygdalaseed mit der in Veer et al. (2011) angegebenen Schwelle ($Z < 2,3$ was einem p-Wert von $p < 0,021$ entspricht) analysiert. Diese Analyse blieb wiederum ohne ein signifikantes Ergebnis für den mPFC. Veer et al. (2011) interpretieren ihre Ergebnisse dahingehend, dass die Konzentration des zirkulierenden Kortisols die funktionelle Konnektivität im mPFC oder der Amygdala beeinflusst. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit kann dieser Rückschluss nicht bestätigt werden, da die funktionelle Konnektivität zwischen dem ACC bzw. dem mPFC und der Amygdala keine Aussagekraft für das Dex/CRH-Profil zu haben scheint. Des Weiteren ging auch aus der Literaturrecherche kein direkter Zusammenhang zwischen dem Dex/CRH-Test und dem nicht-supprimierten Kortisol hervor. Es könnte also auch sein, dass die funktionelle Interaktion zwischen mPFC und Amygdala nur bei Paradigmen, die eine emotionale Regulationsaufgabe beinhalten, zum Vorschein kommt (Johnstone et al., 2007).

Für den ACC und mPFC wird, basierend auf Tier- und Humanstudien, von subregional spezifischen Funktionen bei der Regulation der Stressreaktion ausgegangen (Dedovic et al., 2009b). Bildgebende Studien, die den Effekt von psychosozialen Stress untersuchen, weisen zum Beispiel auf eine inhibitorische Rolle des medialen orbitofrontalen Kortex hin (Pruessner et al., 2008), während einem speziellen Abschnitt des cingulären Kortex dem subgenualen Kortex und dem ventromedialen Kortex, eher eine stimulierende Funktion zugeschrieben wird

(Dedovic et al., 2009b; Kern et al., 2008). Für den ACC deckt sich diese Diversität mit den vorliegenden Ergebnissen dieser Studie.

Es zeigten sich insbesondere für den dorsalen und rostralen ACC negative Korrelationen zwischen den Stresshormonen und der funktionellen Konnektivität, wohingegen eine positive Korrelation für den subcallosalen ACC gefunden wurde. Die funktionelle Konnektivität des subcallosalen ACC war dabei ein starker Prädiktor für ACTH. Dieser Bereich des ACC deckt sich zum Teil mit der Broadmann Area 25 (BA 25), für die starke Verbindungen zum Hypothalamus gezeigt wurden (Hamani et al., 2011; Herman et al., 2003). Des Weiteren wurde in Studien mit depressiven Patienten die Rolle des subcallosalen ACC als ein Knotenpunkt zwischen kortikalen und limbischen Regionen sowie dem Thalamus, Hypothalamus und Hirnstamm hervorgehoben (Hamani et al., 2011). Auch der subgenuale ACC gehört zur BA25, die als zentrale Integrationsstelle für autonome Funktionen gilt (Drevets und Savitz, 2008). Bei einer akuten Depression wurde eine metabolische Hypoaktivität dieser Region festgestellt, die teils begleitet von strukturellen Defiziten ist (Drevets et al., 1997). Später wurde eine erhöhte fMRT-Konnektivität des subgenualen ACC innerhalb des DMN (engl. default mode network) bei depressiven Patienten gefunden (Greicius et al., 2007). Interessanterweise konnte Greicius et al. (2007) auch eine Korrelation zwischen dieser erhöhten Konnektivität und der Dauer der Krankheitsepisode nachweisen, was auf eine Änderung der subgenualen Funktion auf einer relativ langsamen Zeitskala (Wochen bis Monate) spricht.

Dieser Befund deckt sich mit Berichten über die zeitliche Verzögerung bei der Anpassung des Dex/CRH-Profils an Stress bzw. umgekehrt bei erfolgreicher Therapie mit Antidepressiva. Eine Korrelation zwischen kleinem ACC-Volumen und einer HPA-Dysfunktion wurde von MacLulich (2006) berichtet. Trotz der methodischen Verschiedenheit ist diese Arbeit erwähnenswert, da nur wenige MRT-Volumetriearbeiten existieren, die Volumensänderungen mit endokrinologischen Parametern der HPA-Achse in Verbindung gebracht haben.

Der dorsale ACC, für den in der vorliegenden Studie zwei Ergebniscluster gefunden wurden, ist besonders an Prozessen beteiligt, die für die kognitive Kontrolle entscheidend sind. Dazu gehören unter anderem die Fehlerüberwachung, Konfliktwahrnehmung, ebenso wie die Aufrechterhaltung negativer emotionaler Zustände, wie antizipierte Angst (Bush et al., 2000; Straube et al., 2009). Der rostrale ACC scheint wichtig für die Bewertung von emotionalen Reizen zu sein (Yoshimura 2010). Passend dazu wurde mit unterschiedlichen Methoden, einschließlich fMRT, PET und EEG, gefunden, dass die Aktivität im rostralen ACC bei Patienten mit Depression ein prädiktiver Marker für das Ansprechen der Therapie ist (Drevets et al., 1997; Pizzagalli et al., 2006).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sprechen dafür, dass die Konnektivitätsmuster innerhalb des ACC und mPFC in Ruhe schon bei Gesunden prädiktiv dafür sind, wie der Organismus mit Stress umgeht (Kiem et al. im Review), wobei der „Umgang mit Stress“ in dieser Arbeit nur sehr indirekt durch

den Dex/CRH-Test abgebildet wird. Da psychosoziale Stressoren die Funktion der HPA-Achse außerordentlich stark stimulieren (Kern et al., 2008) und sie auch dafür bekannt sind, das Risiko für Stress assoziierte Krankheiten zu erhöhen (de Kloet, 2005), ist es plausibel, dass die funktionale Konnektivität des ACC/mPFC prädiktiv für den Dex/CRH-Test ist.

All diese Regionen sind besonders in der Selbstwahrnehmung, Verarbeitung von autobiografischen Reizen, Planung und Vergegenwärtigung von Zukunftsplänen involviert (Buckner et al., 2008; Schmitz und Johnson, 2007). Dies sind alles kognitive Leistungen, die daran beteiligt sind, ob eine Situation als kontrollierbar, herausfordernd oder stressig empfunden wird. Da in der vorliegenden Studie gesunde Probanden untersucht wurden, weisen die hier berichteten Befunde darauf hin, dass cinguläre und präfrontale Netzwerke nicht nur im Krankheitsfall Dysfunktionen aufweisen (Steele et al., 2007), sondern auch unter Normalbedingungen zu einer individuellen Stressreaktion und -regulation beitragen. Nicht nur die funktionelle Konnektivität innerhalb seedbasierter Ruhenetzwerke, sondern auch Konnektivitäten zwischen den Seedregionen wurden im Weiteren bezüglich ihres prädiktiven Potentials hier untersucht.

4.4.1 Bedeutung der Interseed-Konnektivitäten in Abgrenzung zu den seedbasierten Konnektivitäten für die Charakterisierung der Kapazität der HPA-Achse in gesunden Probanden

Bei Analysen von Ruhenetzwerken, die in dieser Arbeit durch Seeds erzeugt wurden, sollte immer komplementär zur Analyse der Netzwerke auch die Korrelation zwischen den Seedregionen selbst analysiert werden. Diese Kreuzkorrelationsanalysen wurden zunächst für die 15 Seedregionen durchgeführt. Die Interpretation ist hier etwas einfacher, da je zwei klar anatomisch definierte Regionen untersucht werden, während die Seedanalyse bis zu einem gewissen Grad explorativ ist. Insgesamt zeigte sich zwischen beiden Analysen eine ähnliche Ergebnisstruktur:

- es ergaben sich mehr negative als positive Korrelationen (bei $p < 0,05$ ein Verhältnis von 8:2)
- unter den negativen Korrelationen war die stärkste jene der L/R hippocampalen Region
- weitere prädiktive Korrelationen umfassten ACC/mPFC-Verbindungen, ACC/ACC-Verbindungen, oder Amygdala/Hippokampus-Verbindungen.

Unter der Annahme, dass Subregionen der limbischen Strukturen unterschiedliche, teils stressorspezifische, Aufgaben innerhalb der Stressregulation haben bzw. eine gegensätzliche Modulation der HPA-Achse übernehmen (Dedovic et al., 2009b; Jankord und Herman, 2008), wurden auch Subregionen in die Analyse der Interseed-Konnektivität einbezogen.

Hervorzuheben ist dabei der Schwerpunkt der prädiktiven Interaktionen der rechten Hemisphäre (Hecht, 2010; Otto et al., 1987; Wittling, 1997). Hierbei fiel besonders jene Interaktion des rechten Subiculus zur bilateralen Amygdala als Marker des individuellen Dex/CRH-Test-Profiles auf. Interessanterweise ergeben sich wesentlich stärkere Korrelationen, wobei noch deutlicher die Hippokampus/Amygdala-Verbindungen hervortreten.

Als hippokampale Subregion war das rechte Subiculum hier prominent mit Konnektivitäten zur beidseitigen Amygdala. Das Subiculum ist dafür bekannt, eine Schnittstelle zwischen dem Hippokampus und der HPA-Achse zu sein, und letztere zu inhibieren (Lowry, 2002; O'Mara, 2005). Eine besondere Sensitivität dieser limbischen Struktur für die Kortisol bedingte Feedbackregulation der HPA-Achse scheint daher möglich. Die positiven Korrelationen sind, neben den regionalen Aspekten, konzeptionell wichtig, da sie deutlich werden lassen, dass Regulationssysteme in beiden Richtungen gleichzeitig aktiv sind. Zusätzlich ist es dadurch auch unwahrscheinlicher, dass eine denkbare artifizielle Störung generell bei Probanden mit höheren Kortisolwerten zu einer niedrigeren Konnektivität führt. Ein solcher systemischer Fehler hätte dann die positiven Korrelationen aufgehoben.

Zusammenfassend konnte im Rahmen der Untersuchung der ersten Fragestellung gezeigt werden, dass mit fMRT gemessenen Ruhenetzwerke der limbischen, paralimbischen und mPFC Areale, insbesondere das Hippokampus-basierte Netzwerk, prädiktiv für den Status der HPA-Achse, gemessen am Dex/CRH-Test bei jungen gesunden männlichen Probanden, ist. Der Dex/CRH-Test könnte möglicherweise aber auch seinerseits die Integrität der hippokampalen Funktion prüfen.

4.5 Auswirkungen einer veränderten Kortisolumgebung auf das Gehirn in Ruhe im gesunden Probanden

Durch die Untersuchung, welche Gehirnregionen bzw. Netzwerke in Ruhe durch eine Änderung ihrer funktionellen Konnektivität, auf ein verändertes Kortisolmilieu reagieren, sollten indirekt jene kortikalen Regionen sichtbar werden, die an der Regulation der HPA-Achse in Ruhe mitverantwortlich sind. Dabei wurde zu Beginn der Studie davon ausgegangen, dass besonders jene Regionen ihre funktionelle Konnektivität in Abhängigkeit des Kortisolmilieus ändern, die bei krankheitsbedingter oder therapeutischer langfristiger Exposition gegenüber erhöhten Kortisolkonzentrationen, am stärksten von funktionellen und strukturellen Änderungen betroffen sind. Hierauf basierte dann auch die Annahme, dass Regionen bzw. Netzwerke, die bei Gesunden sensitiv auf Änderungen des Plasma-Kortisols in Ruhe reagieren, eine größere Wahrscheinlichkeit haben, zum stressregulierenden System zu gehören.

Das langfristige Ziel bei der Identifikation solcher Ruhenetzwerke ist es, Biomarker für stressbedingte Erkrankungen in Form einer Änderung der

funktionellen Konnektivität im Gehirn zu definieren. Diese können im Sinne eines Vulnerabilitätsmarkers ein Vulnerabilitätsrisiko bereits vor Krankheitsausbruch beinhalten, oder nach Krankheitsausbruch eine Besserung der Symptomatik durch die gewählte Therapie anzeigen. Für diese Fragestellung wurde der Plasma-Kortisol-Spiegel (und damit indirekt die Konzentration von Kortisol im Gehirn) auf zwei Arten manipuliert: durch Gabe von Kortisol im Vergleich zu einer Gabe von Placebo, und durch Suppression des Kortisols durch Gabe von Dexamethason. Damit standen drei Bedingungen zur Verfügung, unter denen jeweils Ruhe-fMRT-Daten aufgenommen wurden.

4.5.1 Einfluss einer Änderung des Kortisolmilieus auf Netzwerke des Gehirns in Ruhe

Die Änderung der funktionellen Konnektivität in Abhängigkeit des Kortisolmilieus wurde zu drei Messzeitpunkten verglichen, vor der Injektion von Placebo oder Kortisol sowie 5 und 30 Minuten nach der Injektion.

Zum ersten Zeitpunkt zeigte sich dabei eine niedrigere funktionelle Konnektivität zweier Hippokampus-Subregionen (Subiculum und Cornu ammonis) im kortisolsupprimierten Status. Dass sich vor der Injektion die Placebobedingung noch nicht von der Kortisolbedingung unterschied, erklärt, weshalb der post hoc Test zwischen diesen beiden Bedingungen keine signifikante Unterschiedlichkeit der Konnektivität für diese Hippokampus-Subregionen zeigte.

Für den zweiten analysierten Zeitpunkt (EARLY) fand sich eine reduzierte funktionelle Konnektivität der Amygdala im Vergleich zwischen Kortisol und Placebo und eine noch niedrigere Konnektivität zwischen Kortisol und dem kortisolsupprimierten Status. Die Hippokampus-Subregionen aus dem PRE Zeitfenster waren hier nicht mehr als unterschiedlich zu identifizieren, stattdessen zeigte sich eine schwache Unterschiedlichkeit der funktionellen Konnektivität in den Netzwerken des mPFC und rostralen ACC.

Die Abnahme der funktionellen Konnektivität des mPFC verstärkte sich dabei für den dritten Zeitpunkt (LATE), wobei hier weder die Änderungen der funktionellen Konnektivität des Hippokampus noch der Amygdala sichtbar waren. Das Muster dieser Konnektivitätsunterschiede pro Zeitfenster ist nicht einfach zu interpretieren.

Grundsätzlich bestand aber eine Abhängigkeit von den Zeitfenstern, die mit dem Aufbau des Injektionsexperiments zusammenhing: Beim ersten Zeitfenster lag noch keine exogene Anhebung des Kortisolspiegels vor, beim zweiten war Kortisol bzw. Placebo einige Minuten im Organismus und damit im Gehirn vorhanden und beim 3. Zeitpunkt etwa 30 Minuten. Da sich die Kortisolsuppressionsbedingung nicht änderte müssen alle zeitabhängigen Änderungen mit der Kortisol/Placebo-Injektion zusammenhängen. Das erste Zeitfenster mit Unterschieden in der hippokampalen Konnektivität könnte daher am ehesten den Kortisolentzugseffekt des Dexamethasons widerspiegeln. Eine spezifische

Reaktion des Hippokampus, der über eine hohe GR- und MR-Dichte verfügt (Seckl et al., 1991), scheint plausibel. Im zweiten Zeitfenster scheint ein früher Kortisoleffekt auf die Amygdala eine Rolle zu spielen, der dann später von einer Reaktion des PFC abgelöst wird.

Dass es einen zeitabhängigen Effekt von GC im Gehirn gibt, wurde zuvor schon sowohl in Tier- als auch Humanstudien untersucht und festgestellt (Ferris und Stolberg, 2010; Henckens et al., 2010; Makara und Haller, 2001). Beispielsweise zeigte die Amygdala in einer fMRT-Studie eine zeitabhängige Änderung der Konnektivität in Ruhe gegenüber emotionalen (visuellen) Stimuli, die mit dem Kortisolgehalt des Speichels korreliert werden konnte. Eine Zeitabhängigkeit der Amygdalaantwort auf exogen appliziertes Kortisol wurde von Henckens et al. (2010) in einer Paradigma-fMRT-Studie gezeigt: Hier wurde eine, vom Zeitpunkt und vom Stimulus (glückliche gegen angstvolle Gesichter) abhängige BOLD-Antwort der Amygdala gefunden, sowie auch eine kortisolabhängige stärkere Konnektivität zwischen der Amygdala und dem mPFC.

Aus dem Ruhe-fMRT-Bereich liegt eine Arbeit vor, die sich mit der Auswirkung einer oralen Kortisolapplikation speziell auf die Amygdala-Konnektivität befasst. Henckens et al. (2012) zeigten hier in einer seedbasierten Analyse, dass nach 105 Minuten nach der Einnahme von 10 mg Kortisol die Konnektivität der Amygdala zum Hypothalamus, zum Hippokampus und zum Locus coeruleus abnahm. Eine dieser Zielregionen (Hippokampus) stimmt damit mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit überein. Die Ergebnisse stimmen sogar bezüglich ihrer Richtung mit den hier gezeigten überein, obwohl sowohl das Zeitfenster, als auch die Kortisolmenge der beiden Analysen nicht vollständig vergleichbar sind.

Unter anderem auch wegen ihrer reziproken Verbindungen zu dem dorsalen Kontrollnetzwerk, zu welchem auch der Hippokampus, dorsale Regionen des ACC und der präfrontale Kortex gehören, wird die Amygdala mit der Regulation von affektivem Verhalten in Verbindung gebracht (Drevets et al., 2008; Phillips, 2003; Roy et al., 2009). Dass daher die Amygdala, als Knotenpunkt der Emotionsverarbeitung, sehr früh auf die Änderungen des Kortisolumilieus reagiert, scheint plausibel. Das Verschwinden dieses Unterschieds der Konnektivität der Amygdala nach 30 Minuten könnte spezifisch für die hier gewählte Dosis und Zeitachse sein, verweist aber in jedem Fall auf eine Zeitabhängigkeit der Amygdalareaktion auf Kortisol.

Dem im LATE Zeitfenster prominenten mPFC werden, je nach Subregion und abhängig vom Stressortyp, unterschiedliche Modulationsmöglichkeiten der HPA-Achse zugesprochen (Czeh et al., 2008; Dedovic et al., 2009b). Interessant bei dem vorliegenden Befund ist, dass sich die Konnektivitätsabnahme des mPFC schon zum EARLY Zeitpunkt durch einen Trendeffekt andeutet, aber erst für das LATE Zeitfenster signifikant wurde. In Tiermodellen wurde gezeigt, dass der mPFC dicht besetzt mit GR ist (Sanchez et al., 2000), was darauf hindeutet, dass diese Region die Auswirkungen der Kortisolsuppression durch Dexamethason sensitiv

registrieren sollte. Da Dexamethason zum Zeitpunkt der Messung bereits 14 Stunden im Organismus war, war das Netzwerk des mPFC an diese Kortisol-Deprivation bereits adaptiert, weshalb möglicherweise für diese Region keine funktionelle Konnektivitätsänderung im PRE Zeitfenster gefunden wurde. Beim Zeitpunkt der Kortisolgabe könnte der mPFC (möglicherweise sogar über die Amygdala ausgelöst vgl. Veer et al.(2011b)) das Signal zur Änderung der HPA-Achsen-Modulation erhalten haben und daher in Folge der Anpassung sich erst später der Effekt auf funktionelle Konnektivitätsänderung im Vergleich zum supprimierten Status zeigt.

Durch die Interaktion zwischen rechtem und linkem mPFC nach Injektion könnte die Inhibition auf die HPA-Achse möglicherweise gelöst worden sein. Dies hätte dann zur Folge, dass die Produktion und Ausschüttung von Kortisol, in Reaktion auf die Injektion, wieder aufgenommen werden kann. Zu klären bleibt, weshalb für den mPFC kein (messbarer) Unterschied zwischen Placebo und Kortisol gefunden wurde. Möglicherweise war die Menge an injiziertem Kortisol nicht ausreichend, um ausreichende Effekte im mPFC im Vergleich mit einer Placeboinjektion zu erzielen.

Des Weiteren könnte die mPFC-Region eine hierarchisch übergeordnete Regulatorfunktion in den kortikalen Netzwerken innehaben. Dass die Sensitivität gegenüber einer Änderung des Kortisolmilieus im präfrontalen Kortex am höchsten ist, wurde auch durch die Ergebnisse der FCDM-Analyse unterstützt. Auch hier wurde eine starke Reduktion der Konnektivität in der kortisol-supprimierten Bedingung beobachtet. Die Änderung der Konnektivitätsdichte war jedoch interessanterweise im DLPFC am stärksten. Diese hypothesenfreie Analyse zeigte auf dem gewählten Signifikanzniveau keine sonstigen Areale, insbesondere auch nicht die erwähnten limbischen und paralimbischen Seedregionen. Der ohnehin schon sehr subtile Effekt der limbischen Region (Amygdala) und des mPFC in den seedbasierten Analysen scheint also insgesamt schwach im Vergleich zum Effekt im DLPFC. Der Nachteil der FCDM-Methode wird hier auch sichtbar, da die genauen Zielorte der Konnektivitätsänderung zum DLPFC unklar sind.

Einschränkend muss an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, dass auch eine andere Ursache für die hier gefundenen Konnektivitätsunterschiede verantwortlich gemacht werden könnte. Ein Unterschied zwischen der Aufnahme der drei unterschiedlichen Kortisolmilieubedingungen bestand nämlich darin, dass nur in der Placebo- und Kortisolbedingung den Probanden eine intravenöse Verweilkanüle gelegt wurde. Es besteht also die Möglichkeit, dass die Probanden sowohl in der Placebo- als auch in der Kortisolbedingung vor der eigentlichen Intervention einen erhöhten Kortisolspiegel auf Grund des physischen Stressors hatten. Die zusätzliche Injektion von 20 mg Kortisol könnte dann keinen besonders ausgeprägten Effekt mehr auf die ohnehin schon durch endogenen Stress

beeinflussten (Kontroll-)Netzwerke haben (van Marle et al., 2010; Veer et al., 2011a).

Als weitere Erklärungsalternative weshalb zwischen der Placebo- und der Kortisolbedingung kein deutlicher Konnektivitätsunterschied detektiert werden konnte, könnte auch an der antizipatorischen Angst der Probanden gegenüber der Kortisolinjektion gelegen haben. Da die Probanden bezüglich der Art der Intervention verblindet waren und sie, einer Befragung nach, zwar den Zeitpunkt, aber nicht die Art der Injektion wahrnehmen konnten (vgl. dazu auch Strelzyk et al. 2012, Lovallo et al., 2010) ist es plausibel, dass die Annahme Kortisol zu erhalten, an beiden Messtagen bestand, aber nicht während der Messung unter Dexamethasoneinfluss. Auch hatten die Probanden angegeben, den Injektionszeitpunkt durch die kühle Temperatur der Flüssigkeit bemerkt zu haben.

Für zukünftige Studien bedeutet dies:

- Erstens, sollte die zu injizierende Lösung möglichst auf Körpertemperatur angewärmt werden;
- Zweitens, sollten die Probanden noch ausführlicher darüber aufgeklärt werden, dass Kortisol keine spürbaren physiologischen Akuteffekte hat, um eine Antizipationsangst zu minimieren;
- Drittens, sollten Kortisolmessungen vor der Injektion durchgeführt werden, um die durchschnittliche Dauer der Stressreaktion, ausgelöst durch das Anlegen einer Veneverweilkanüle besser dokumentieren zu können.

Aus dem letztgenannten Versuchsaufbau könnte dann der nötige Abstand zwischen Anlegen der Venenverweilkanüle und Normalisierung des Kortisolhaushaltes bestimmt werden. Es ist denkbar, dass die Berücksichtigung dieser „vorgeschalteten“ Kortisolausschüttung nach physischem Stress (Schmerz), sogar noch entscheidender ist, als die exakte Einhaltung der gleichen Tagesuhrzeit zur Vermeidung von zirkadian Effekten.

Abschließend lässt sich an dieser Stelle zusammenfassen, dass die Änderungen des Kortisolmilieus insgesamt andere Auswirkungen auf die untersuchten Netzwerke hatten, als zu Beginn der Studie vermutet. Durch die genannten zusätzlichen Einflussfaktoren auf das Kortisolmilieu, die vor allem die Placebobedingung moduliert haben könnten, scheint die schwache limbische Reaktion zumindest teilweise erklärbar. Es wurde dennoch ein Netzwerk mit zeitlich gestaffelter Sensitivität gegenüber Änderungen des Kortisolmilieus, bestehend aus Teilen des Hippokampus, der Amygdala und Regionen im PFC, als ein Ruhenetzwerk der Stressreaktion erkennbar.

4.5.2 Placebo-kontrollierte Effekte der Kortisolinjektion auf die funktionelle Konnektivität in Ruhe

Der akute Effekt einer Kortisolgabe im Vergleich zu Placebo wurde hier unter Verwendung von verschiedenen Methoden untersucht. Dabei lag das Hauptinteresse auf der Intervention x Zeit Effekten (Intervention: Placebo versus Kortisol) auf die funktionelle Konnektivität innerhalb seedbasierter Netzwerken, zwischen diesen Seedregionen und in Erweiterung, zwischen allen Regionen des AAL-Atlas-Systems. Zusätzlich wurde FCDM herangezogen, um die durchschnittliche globale Konnektivität pro Voxel zu analysieren. Es soll dabei auch die Bedeutung des Faktors Zeit bzw. die daraus folgende Notwendigkeit der Kontrolle der Vigilanz diskutiert werden. Die Vigilanzkontrolle ist allgemein ein Problem für Untersuchungen der funktionellen Konnektivität und speziell für solche, die pharmakologische Effekte auf Ruhenetzwerke untersuchen.

In Abgrenzung zur Untersuchung der Änderungen der funktionellen Konnektivität der Ruhenetzwerke in Abhängigkeit des Kortisolmilieus lag der Fokus hier auf der Darstellung placebokontrollierter Effekte einer Kortisolinjektion auf das Gehirn. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte dabei vor allem für den präfrontalen Kortex (ACC, Subregionen des ACC sowie im DLPFC) ein Kortisoleffekt auf die funktionelle Konnektivität der Ruhenetzwerke bzw. Konnektivitätsdichte gefunden werden. Ein, wie zu Beginn der Arbeit vermuteter, Haupteffekt auf die funktionelle Konnektivität von limbischen Regionen, speziell der Amygdala und des Hippokampus, konnte nicht festgestellt werden.

In der seedbasierten Analyse änderte sich stattdessen in Abhängigkeit der Kortisolinjektion die funktionelle Konnektivität des rechten subcallosalen ACC. Dabei zeigte das Muster der Änderung unter Kortisol genau einen gegenläufigen Verlauf im Vergleich zu Placebo. Unter Kortisol nahm die Konnektivität zunächst ab und später zu, während unter Placebo zunächst eine Zunahme und dann eine Abnahme zu beobachten war.

Zusätzlich konnten noch Trendeffekte für die Interaktion in den Netzwerken des linksseitigen subgenualen und subcallosalen ACC gefunden werden. Eine Abnahme der funktionellen Konnektivität dieser subgenualen bzw. subcallosalen ACC-Teilen gleich nach der Injektion weist zunächst einmal darauf hin, dass die externe Zufuhr von Kortisol im Gehirn in dieser Region sehr sensitiv registriert wird. Mit fMRT kann hierbei nicht geklärt werden, ob diese Reaktion direkt über die GR im subgenualen ACC, oder über neuronale Signale aus anderen Regionen mit Verbindung zum subgenualen ACC, bewirkt wird.

Bei der Interseed-Analyse zeigte erneut der subgenuale ACC kortisolabhängige Änderungen seiner Konnektivität, hierbei vor allem zum dorsalen ACC und schwächer auch zum Hippokampus und zum mPFC. Eine Betonung des Kortisoleffekts im präfrontalen Kortex, einschließlich des ACC, zeigte sich also sowohl innerhalb der Seednetzwerke, als auch zwischen diesen. Die

Hippokampuseffekte wurden lediglich in der Interseed-Analyse gefunden, wobei diese nicht robust gegenüber der multiplen Testkorrektur waren.

Der subcallosale ACC wurde von Mayberg et al (2005) als Schlüsselregion im Gehirn identifiziert, die als Schaltstelle zwischen limbischen und frontalen Regionen vermittelt (Thomason et al., 2011). Die in der vorliegenden Arbeit gefundene kortisolabhängige Änderung der funktionellen Konnektivität im subcallosalen ACC in Ruhe, könnte sich also über die generelle Vermittlungsfunktion zwischen Region, die eine akute Änderung des Kortisolhaushaltes bemerken, bewerten und bezüglich ihrer Dringlichkeit weiterverarbeiten, erklären.

Eine metabolische Hyperaktivität des subgenualen ACC bei schwerer Depression ist ein wichtiger Befund stressbedingter Erkrankungen (Drevets et al., 1997). Hierauf aufbauend wurde auch die Tiefenhirnstimulation des subcallosalen ACC bei therapieresistenter Depression angewendet (Hamani et al., 2009; Lozano et al., 2012). Die Autoren vermuten daher, dass über die elektrische Tiefenstimulation des subcallosalen ACC jene Netzwerke verändert werden, deren Dysfunktionalität einen Teil der depressiven Symptomatik bewirkt. Diese Netzwerke schließen den Hypothalamus, den Hirnstamm, die Amygdala und den Hippokampus sowie Teile des PFC ein (Gutman et al., 2009; Mayberg, 1997).

Der ACC wurde insgesamt schon in verschiedenen Studien für seine Rolle in der Integrität der HPA-Achse (Aihara et al., 2007; MacLulich et al., 2006) und bezüglich seiner Rolle in der Emotions- oder Stressverarbeitung untersucht (Bush et al., 2000). Dabei wurden mehrfach mit verschiedenen Methoden Zusammenhänge zwischen strukturellen und funktionellen Veränderungen des subgenualen ACC und Depression gefunden (Drevets et al., 1997; Greicius et al., 2007; Sacher et al., 2012). So zeigte beispielsweise eine Änderung der funktionellen Konnektivität des subgenualen ACC zum Default Mode Network bei akuter Depression eine Korrelation mit der Krankheitsdauer, Wahrscheinlichkeit und Häufigkeit einer erneuten Krankheitsepisode (Frodl et al., 2008a; Mayberg, 1997; Sheline, 2003). Auch zeigten Patienten mit starker genetischer Belastung für affektive Störungen eine Volumenreduktion des subgenualen ACC sowie eine geringere Anzahl an dortigen Gliazellen (Drevets et al., 2008; Ongur et al., 1998).

Bei depressiven Patienten liegt, zusätzlich zur veränderten Funktionalität der subgenualen Region, auch ein erhöhter Kortisolspiegel im Blut (Hypercortisolismus) vor, der wiederum ein Indikator für eine gestörte Regulation der HPA-Achse ist (Holsboer, 2000; Holsboer, 2001). Es konnte gezeigt werden, dass die Besserung der depressiven Symptomatik mit einer Normalisierung der Funktion der HPA-Achse zusammenhängt, was in Folge auch zu einer Normalisierung der Plasmakortisolkonzentration führt (Holsboer und Ising, 2010; Ising et al., 2005a). Diesem Mechanismus könnte theoretisch die Normalisierung funktioneller Dysfunktion des subgenualen ACC zu Grunde liegen.

Dieser Zusammenhang könnte auch erklären, weshalb der subgenuale ACC, auch in gesunden Probanden, sensitiv auf die Kortisolkonzentrationsänderungen

reagiert. Ein direkter Zusammenhang zwischen subgenualer Aktivität und Kortisol in gesunden Probanden wurde von Kern et al. (2008) in einer PET-Studie berichtet. Hierbei zeigten jene Probanden, die einen höheren Glukosemetabolismus im ACC aufwiesen, eine geringere Kortisolkonzentration im Speichel nach Exposition gegenüber emotionaler Stimuli. Daraus schlussfolgerten Kern et al., dass dem ACC eine inhibierende Funktion in der Regulation der HPA-Achse zuteil ist (Kern et al., 2008).

Einschränkend muss darauf hingewiesen werden, dass hier in der Seedanalyse und der Interseed-Analyse solche Netzwerke untersucht wurden, die zuvor schon im Zusammenhang mit der Stressregulation, Modulation der HPA-Achse, oder Kortisol in Verbindung gebracht wurden (Dedovic et al., 2009a; Frodl und O'Keane, 2012; Harrison et al., 2009; Pruessner et al., 2008). Dies bedeutet, dass andere Netzwerke in diesen Analysen methodenbedingt nicht gefunden werden können. Es gibt, bedingt durch die Omnipräsenz der GC-Rezeptoren im gesamten Gehirn, aber gute Gründe zur Annahme, dass Kortisol weitläufigere Effekte im Gehirn hat, als auf die hypothetisierten Netzwerke der Stressverarbeitung (Ferris und Stolberg, 2010; Strelzyk et al., 2012). Diese Annahme wird unterstützt durch das Teilergebnis einer Studien von Strelzyk et al. (2012). Hier wurde an gesunden Probanden nach einer Kortisolinjektion eine generelle Abnahme des EEG-Signals im Gehirn, ohne spezielle regionale Schwerpunkte, gefunden. Als Interpretation schlägt die Gruppe vor, dass Kortisol jene neuronalen Systeme dämpft, die normalerweise während einer Stresssituation aktiv sind, um diese Netzwerke vor einer Art „Prozessierungs-Overload“, während der Stresssituation (markiert durch die Ausschüttung von Kortisol und dem Feedback ins Gehirn) zu schützen.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit zeigte auch die Erweiterung der Analysen auf das AAL-Atlas-System, in Analogie zu den Analysen des Kortisolmilieus, mit einem schwachen Kortisoleffekt für die Amygdalakonnektivität in Ruhe, nur einen geringen Effekt auf limbische Regionen. Zusätzlich zeigte bei dieser Analyse auch der Thalamus eine Änderung der funktionellen Konnektivität, wobei dieses Ergebnis in Kombination mit verschiedenen hoch signifikanten Änderungen der Konnektivität in Ruhe zwischen entfernten Regionen (besonders frontalen und occipitalen Regionen und parieto-occipitalen Regionen untereinander) vorsichtig interpretiert werden sollte. Aufgrund der Sensitivität des Thalamus gegenüber Vigilanzeffekten, besteht die Möglichkeit, dass ein Teil der Thalamuseffekte in der Intervention \times Zeit Analyse auf Reste für der dort nicht korrigierten Vigilanzeffekte basiert.

Der zweite Methodenansatz, um hier Effekte von Kortisol auf das gesamte Gehirn zu untersuchen war die FCDM. Dabei stützte diese Methode den Schwerpunkt der frontalen kortisolabhängigen Änderung der Seed- und Interseed-Analysen, da der linke ACC als einzige Region seine Konnektivitätsdichte in Abhängigkeit von Kortisol ändert. Wie bereits diskutiert erlaubt FCDM leider nicht, die Zielregion dieser Änderung zu identifizieren. Im Rahmen der erörterten

Funktion als „Wächter“ über verschiedene Netzwerke der Stressregulation und Emotionsverarbeitung und damit auch Verbindungen zu HPA-Achsen regulierenden Regionen liegt es nahe, dass sich die funktionelle Konnektivität des ACC zu verschiedenen Regionen durch Kortisol verändern.

Der Unterschied zwischen den Ergebnissen des AAL-Atlas-Systems und der FCDM lässt sich durch die unterschiedlichen dahinterstehenden statistischen Methoden erklären: Bei der für das AAL-Atlas-System verwendeten Kreuzkorrelation werden Korrelationen zwischen je zwei Regionen berechnet und anhand einer festgesetzten Schwelle der p-Werte sortiert bzw. als signifikant angezeigt. Im Gegensatz dazu wird bei FCDM das Signal jedes Voxel mit allen anderen Voxeln im Gehirn gegeneinander korreliert und anhand von Korrelationshäufigkeit zu Ergebnisclustern gruppiert deren Signal sich ändert. Dabei können sich hier statistisch weniger starke Korrelationsänderungen zu statistisch signifikanten Änderungen pro Voxel aufsummieren (Tomasi und Volkow, 2010a).

Weitere fMRT-Studien, die speziell nicht-genomische Effekte einer Kortisolinjektion auf das menschliche Gehirn in Ruhe untersuchten, erzielten unterschiedliche Ergebnisse bezüglich des Effekts einer Kortisolinjektion. In einer konzeptionell ähnlichen Studie (Strelzyk et al., 2012) zeigte sich nach 15 Minuten einer Kortisolinfusion (4 mg) eine Abnahme des regionalen Blutflusses im bilaterale Thalamus. Dass in dieser Studie ein ausreichend großer Abstand zwischen dem Anlegen der Venenverweilkanüle und der Kortisolinfusion lag, spricht zunächst für die Abbildung eines direkten Kortisoleffekts (Strelzyk et al., 2012). Dabei fand auch Strelzyk in seiner Untersuchung keine kortisolabhängigen Effekte auf limbische Regionen. Dies wiederum steht gegen den oben angeführten Verdacht, dass die fehlenden kortisolabhängigen Änderungen der funktionellen Konnektivität der limbischen Regionen in der vorliegenden Studie auf eine durch physischen bzw. psychischen Stress verfälschte Placebobedingung zurückzuführen sind. Wie bereits angemerkt sind Konnektivitätsänderungen (Horovitz et al., 2008; Kaufmann et al., 2006; Sämann et al., 2011; Spoor et al., 2010) und auch metabolische Änderungen (Braun et al., 1997) im Thalamus hochgradig mit der Vigilanz verknüpft, so dass auch bei Strelzyk et al. (2012) der Vigilanzeffekt möglicherweise vorherrschend war.

Diskutierenswert sind an dieser Stelle noch zwei weitere Studien bezüglich kortisolabhängiger Änderungen des BOLD-Signals. Beiden Studien gemeinsam ist die Identifizierung eines Effekts einer Kortisolinjektion auf limbische Regionen. Mit einer placebokontrollierten 10 mg Injektion gelang es Lovallo et al. (2010) eine Abnahme des BOLD-Signals für den Hippokampus und die Amygdala zu finden, ohne dass sich Änderungen des Signals im Thalamus zeigten. Da hier sogar nur die Hälfte der Kortisolmenge verabreicht wurde, ist anzunehmen, dass methodische Unterschiede für die Diskrepanz der Ergebnisse mitverantwortlich sind. Einerseits wurde auch, wie bei Strelzyk, in der Studie von Lovallo nicht für

die Vigilanz korrigiert, was bei fMRT-Messungen in Ruhe von 45 Minuten nicht optimal ist (vgl. Befunde der Schlafstudien).

Symonds et al. (2012) führte ebenfalls eine Kortisolinjektion (100 mg) durch und analysierte die kortisolabhängigen Effekte auf Ruhe-fMRT und Daten die während einer N-Back-Aufgabe aufgenommen wurden. Sie fand dabei einen deutlichen Kortisoleffekt auf das BOLD-Signal des Hippokampus in Ruhe. Es zeigte sich eine Signalzunahme im Hippokampus zwischen 11-19 Minuten nach der Kortisolinjektion. Sowohl Lovallo als auch Symonds fokussierten ihre Analysen dabei auf das absolute BOLD-Signal und nicht auf die Änderung der funktionellen Konnektivität. Es bleibt daher festzustellen, dass die vorliegende Arbeit als erste die hippokampale Konnektivität nach einer Kortisolinjektion im Menschen untersuchte.

Es bleibt, neben den methodischen Unterschieden, wie unterschiedliche Seedregionen, Analyseverfahren und Korrektur von Störfaktoren, die Annahme bestehen, dass sowohl konzentrationsabhängige als auch zeitabhängige Effekte von Kortisol auf die kortikale Funktion auch im Menschen bestehen. Insgesamt folgt daraus, dass bei einer Injektion von 20 mg Kortisol nach 5 bzw. 30 Minuten stärkere Effekte im präfrontalen Kortex als in der Amygdala und im Hippokampus bezüglich der Konnektivität gefunden werden und dass die bisherigen Studien, vor allem aufgrund der regionalen Einschränkung oder methodischen Unterschiede nicht gut vergleichbar sind.

4.6 Methodische Aspekte und Einschränkungen

Wie bei jeder Studie, bedarf auch die Vorliegende einer Diskussion methodenrelevanter Aspekte und einschränkende Hinweise bezüglich der Gültigkeit der hier erzielten Befunde. Zunächst einmal sollen hier die sich ergebenden Vorteile und Schwierigkeiten einer kombinierten EEG/fMRT Messung angeführt werden. Daran anschließend soll die hier gewählte Bevorzugung der intravenösen Applikation von Kortisol gegenüber der oralen erläutert und bezüglich der daraus resultierenden Komplikationen für die Studiendurchführung diskutiert werden. Abschließend werden noch interpretatorische Einschränkungen der mit dieser Studie erzielten Ergebnisse besprochen.

4.6.1 Vorteile und Nachteile von kombinierten EEG/fMRT-Messung und sich ergebende Schwierigkeiten

Die Vigilanzschwankungen in der vorliegenden Studie sprechen dafür, dass bei längeren fMRT-Ruhe-Messungen durch ein kombiniertes EEG, für die Vigilanz objektiv dokumentiert wird. Dabei hat der Aspekt der Vigilanzüberwachung mittels EEG erst in den letzten Jahren auch für die neurowissenschaftliche Forschung außerhalb der Somnologie an Bedeutung gewonnen. Der entscheidende Vorteil der Kombination beider Methoden (EEG/fMRT) liegt in der Verknüpfungs-

möglichkeit der hohen räumlichen Auflösung des fMRT mit der hohen zeitlichen Auflösung des EEG, wodurch es zu einem gewissen Grad möglich ist, die jeweilige Schwächen der einen Methode durch die andere auszugleichen. Die kombinierte Aufnahme verursacht aber auch wechselseitige Artefakte in den Daten (Laufs, 2008), die die Analyse der Daten dann erschweren.

Beispielsweise entstehen durch die Gradientenspule starke Artefakte im EEG durch die wechselnde Stärke und Polarität der angelegten elektromagnetischen Felder. Umgekehrt entstehen während der fMRT-Messungen, durch Signalauslöschungen, die durch leitende kreisförmige Gegenstände, wie aufgerollte Kabel des EEG-Setups, entstehen können (Gutberlet, 2009). Zu bedenken gilt es auch, dass nicht alle MRT-Sequenzen mit einer EEG-Kappe gemessen werden können, da bei bestimmten Sequenzen die Gefahr besteht, dass elektrische Strömungen in den kreisförmigen Elektroden erzeugt werden, die die Elektroden erhitzen und dem Probanden durch Verbrennungen Schaden zuführen können. Des Weiteren gilt es bei der Studienplanung zu beachten, dass der Platz und dadurch der „Komfort“ in der Kopfspule des MRT, durch die EEG-Kappe weiter eingeschränkt wird. Eine zusätzliche Anwendung von Kopfhören kann, je nach MRT-Kopfspule, ebenfalls zu weiteren Platzeinschränkungen führen. Ebenso besteht die Möglichkeit, dass es bei langen Messungen zu schmerzhaften Druckstellen am Hinterkopf der Probanden kommen kann. Diese können zur Beeinflussung der Daten durch den Schmerzreiz und eventuell auch zum Studienabbruch durch den Probanden führen. Wegen der speziellen EEG-Montage am Kopf der Probanden wird auch mehr Zeit zur Vorbereitung der kombinierten EEG/fMRT-Messungen benötigt.

Aufgrund der Vorerfahrung in der Arbeitsgruppe Neuroimaging am MIP mit der kombinierten EEG/fMRT-Messung, waren der Aufwand bei der Aufnahme und der Auswertung gerechtfertigt. Zusätzlich sprachen die publizierten Effekte der Vigilanz auf fMRT-Ruhe-Konnektivität und mögliche Effekte von Kortisol auf die Vigilanz dafür, die EEG-Daten zur Vigilanzüberprüfung zu erheben. Bezüglich der Methode der Vigilanzobjektivierung ist anzumerken, dass zunächst ein automatisches Verfahren versucht wurde (Olbrich et al., 2009), wobei dann doch ein klassisches visuelles Scoring nach der Methode von Rechtschaffen und Kales (1968) bevorzugt wurde. Für die reine Vigilanzkontrolle könnten in Zukunft auch fMRT-basierte Methoden zur Verfügung stehen (Tagliazucchi et al., 2012).

4.6.2 Hormonintervention - Dosierung und Applikationsart

Die Grundvoraussetzung für die hier durchgeführte Studie war die Annahme, dass Kortisol nicht nur peripher und auf Ebene der Hypophyse wirkt, sondern auch durch Passieren der Blut-Hirn-Schranke zentral im Gehirn wirksam ist. Im Gegensatz dazu wurde davon ausgegangen, dass Dexamethason primär auf Ebene der Hypophyse wirkt und keinen direkten Einfluss auf das Gehirn nimmt (de Kloet, 1997). Dexamethason wurde hier mit einer Konzentration von 1,5 mg oral

verabreicht, um dem validierten Protokoll des Dex/CRH-Tests zu folgen. Die Kortisol- und ACTH-Konzentration nach Einnahme zeigte eine deutliche Suppression der HPA-Achse auf Ebene der Hypophyse.

Kortisol wurde in einer Konzentration von 20 mg verabreicht, wodurch der natürlich negative Feedbackmechanismus innerhalb der HPA-Achse aktiviert werden sollte. Durch das durchgeführte Zusatzexperiment einer Kortisolinjektion außerhalb des Scanners konnte gezeigt werden, dass diese Kortisolkonzentration ausreichte, um an der HPA-Achse wirksam zu sein. Dies zeigte sich im Absinken der ACTH-Konzentration nach der Kortisolinjektion, was auf eine negative Rückkopplung des exogen verabreichten Kortisols im Rahmen der HPA-Achse zurückgeführt werden kann. Trotzdem handelte es sich um eine physiologische Menge Kortisol, wie sie auch bei Exposition eines Stressors natürlicherweise ausgeschüttet werden kann. Dies wurde auch mit einem Vergleich der Plasmakonzentrationen nach einem psychischen Stressparadigma und einer oralen Einnahme von 20 mg Kortisol von Buchanan et al. (2001) gezeigt.

Kortisol wurde in der vorliegenden Arbeit über eine intravenöse Bolusinjektion verabreicht, um den genauen Zeitpunkt der Gabe zu kennen und unabhängiger von pharmakodynamischen Einflüssen zu sein. Da keine gewichtsadaptierte Dosis gegeben wurde, ist nicht auszuschließen, dass leichte Plasmakonzentrationsunterschiede zwischen den Probanden bestanden. Der sich durch die Injektion ergebende primäre Nachteil ist, dass die Probanden vor der fMRT-Messung durch das Nadellegen, einem physischen Stress ausgesetzt sind. Es ist deshalb essentiell darauf zu achten einen ausreichend großen Abstand zwischen Anlegen der Venenverweilkanüle und der Kortisolintervention einzuhalten, da die Stressreaktion individuell unterschiedlich ausfallen kann.

Ein grundsätzliches Problem von Studien mit Substanzintervention ist, dass meist nur indirekt abgeschätzt werden kann, ob eine gegebene Substanz tatsächlich die Blut-Hirn-Schranke passiert. Die Quantifizierung von radioaktiv markierten Substanzen im Gehirn ist hierbei eine Möglichkeit und in PET-Anwendungen gebräuchlich, im MRT-Bereich nicht ohne weiteres anwendbar. Im MRT können theoretisch spektroskopische Methoden (zum Beispiel Fluorspektroskopie) für solche Zwecke herangezogen werden, soweit die Substanz chemisch verändert werden kann, ohne dass sich seine physiologischen oder pharmakologischen Eigenschaften ändern.

4.6.3 Einschränkungen der Studienergebnisse

Durch die verschiedenen Analysemöglichkeiten von Ruhe-fMRT-Daten ist es wahrscheinlich, dass bestimmte Effekte verborgen geblieben sind, die mit anderen Methoden gefunden worden wären. Entscheidend für Konnektivitätsanalysen ist der Umgang mit Störvariablen, vor allem Bewegung und globalen bzw. unspezifischen nicht-neuronalen Signalschwankungen. In dieser Arbeit wurden hierfür Methoden verwendet, die insgesamt zu standardisierten seedbasierten

Netzwerken führen. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass die Auswahl der Störvariablen im Modell die Netzwerkeigenschaften leicht beeinflussen. Deshalb wurden, für die Analysen der Fragestellung I zwei Messungen zur Stabilisierung gemittelt, während dies für Fragestellung II nicht möglich war.

Die im Rahmen dieser Arbeit angewandten fMRT-Analysen basierten auf etablierten Methoden (Whitfield-Gabrieli und Nieto-Castanon, 2012) mit denen funktionelle Konnektivität quantifiziert werden kann. Auf Ebene der SECOND LEVEL Analysen wurden dabei 3 Arten von linearen Korrelationen analysiert:

- die Korrelation einer Seedregion zum gesamten Gehirn bzw. eingeschränkt, zu den Bereichen des Gehirns die zum natürlichen Ruhenetzwerk der Seedregion gehören (seedbasierte Analyse).
- die Korrelation von Regionen untereinander, einmal mit der Auswahl an Seedregionen und einmal anhand einer Parzellierung des gesamten Gehirns mit dem AAL-Atlas-System (Kreuzkorrelationsanalysen)
- die Korrelation von jedem einzelnen Voxel im Gehirn zu allen anderen Voxel, um die durchschnittliche globale Konnektivität eines Voxels zu bestimmen (Functional Connectivity Density Mapping- Analysen)

Der Fokus der vorliegenden Arbeit lag auf der Charakterisierung des Zusammenhangs zwischen Ruhe-fMRT und Dex/CRH-Test bzw. Kortisolgabe an jungen, gesunden, männlichen Probanden. Eine Verallgemeinerung auf eine andere Population ist nicht möglich.

Da hier durch die Kortisolinjektion zwar in den negativen Feedbackmechanismus der HPA-Achse eingegriffen jedoch dadurch kein Stress erzeugt wurde, ist es wahrscheinlich, dass eine Analyse der Daten unter chronischen oder akuten Stressbedingungen andere Befunde zutage gebracht hätten. Für den Ausbau des Stressbiomarkerpotentials wäre es wissenswert, ob die gefundene funktionelle Konnektivität, speziell jene zwischen rechtem und linkem Hippokampus, auch unter einer endogen erzeugten Stressbedingungen prädiktiv für das Dex/CRH-Testprofil wäre.

Es bleibt des Weiteren zu untersuchen, ob es für den Mechanismus des HPA-Achsen-Feedbacks bzw. der damit zusammenhängenden kortikalen Regulation tatsächlich keinen Unterschied macht, ob das Kortisol exogen zugeführt wird oder endogen produziert wird. Es ist denkbar, dass es für diese Unterscheidung einen peripheren Kontrollmechanismus im Organismus gibt, der wiederum auf das Gehirn zurückwirken könnte. Es wäre in Folge denkbar, dass die funktionelle Konnektivität der Ruhenetzwerke ebenfalls andere Muster zeigen könnte, abhängig davon, ob Kortisol exogen appliziert oder endogen erzeugt wird.

Anzumerken gilt es auch, dass die Methode der Untersuchung des BOLD-Signals eine indirekte, makroskopische Messmethode ist. Die Unterschiede in dem gemessenen BOLD-Signal über die Zeit zeigen dabei den Metabolismus des

Gehirns indirekt und auch etwas zeitverzögert über den regionalen Sauerstoffverbrauch des Gewebes an (Heeger und Ress, 2002; Hoge et al., 1999). Sowohl inhibierende als auch stimulierende neuronale Mechanismen verbrauchen Sauerstoff (Shulman et al., 2002). Deshalb ist es bei der Auswertung der Daten nicht möglich zu unterscheiden, ob die dem BOLD-Signal zugrunde liegenden neuronalen Vorgänge im Gehirn einen exzitatorischen oder inhibitorischen Hintergrund haben. Es gibt aber Arbeiten dazu die versuchen diese Wissenslücke zu beheben.

Eine wichtige MRT-Arbeit dazu konnte zeigen, dass die regionale Glutamatkonzentration auch die Konnektivität einer Region vorher sagt, offensichtlich also exzitatorische neuronale Vorgänge mit dem BOLD-Signal bzw. der BOLD-Konnektivität korrelieren (Duncan et al., 2011; Gruber et al., 2012). Eine weitere Einschränkung bei der Analyse der funktionellen Konnektivität zwischen Regionen im Gehirn, nach der hier gewählten Methode ist, dass die Wirkrichtung nicht bestimmt werden kann. Das bedeutet wiederum, dass im Falle der Fragestellung II beobachtet werden kann, welche Gehirnregionen durch die Änderung des Kortisolspiegels betroffen sind, es aber derzeit keine Möglichkeit gibt, den molekularen Signalweg gleichzeitig zu untersuchen.

Die größte Einschränkung bei Analysen des Kortisoleffekts auf die Ruhe-fMRT-Messungen ergab sich durch einen Abfall der Vigilanz im Kortisol- und Placebo-Arm dieser Studie, der bekanntermaßen mit starken Konnektivitätsänderungen einhergeht. Dieser Störfaktor erfordert eine optimale Vigilanzquantifizierung und statistische Korrektur, soweit nicht bereits durch den Experimentaufbau (zum Beispiel durch eine zusätzliche Vigilanzaufgabe, wie die Antworten auf ein akustisches Signal), die Vigilanz aufrechterhalten werden kann.

4.7 Ergebnisszusammenfassung und wissenschaftlicher Beitrag dieser human- biologischen Arbeit

Insgesamt betrachtet, lassen die Daten den Schluss zu, dass sich die funktionelle Konnektivität des Gehirns in Ruhe durch die Änderung des Kortisolhaushalts, sei es durch direkte exogene Kortisolgabe oder durch indirekten Kortisolentzug aufgrund der Dexamethasonsuppression, ändert. Der Schwerpunkt der kortisolabhängigen Modulation lag dabei in präfrontal basierten Ruhenetzwerken.

In den Analysen, die alle drei Kortisolmilieuzustände (Kortisol, Placebo, Kortisolsuppression) verglichen, zeigten sich wesentlich stärkere Effekte durch die Kortisolsuppression als durch die exogene Kortisolgabe. Diese Effekte hatten ihren regionalen Schwerpunkt im mPFC/ACC für die hypothesenbasierte Seedanalyse, und im DLPFC in der hypothesenfreien Analyse (FCDM). Die Hippokampus und Amygdalaeffekte waren hierbei relativ schwach.

Wurde die Bedingung unter Kortisolsuppression aus dem Analyseschema genommen und die Kortisolgabe im Sinne eines pharmakologischen Experiments dynamisch analysiert, zeigten sich Effekte im subcallosalen/subgenualen ACC und

im dorsalen ACC, sowohl im hypothesengesteuerten als auch hypothesenfreien Ansatz. Da bisherige Arbeiten auf die Hippokampus/Amygdala-Region fokusierte, wird daher neu postuliert, dass die Akuteffekte nach 20 mg Kortisol auf ACC-Regionen möglicherweise stärker wirken als auf den Hippokampus. Wie diskutiert, wurde eine geringe Auswahl an Studien durchgeführt, die den Effekt von Kortisol auf Ruhe-fMRT analysierten. Diese decken sich teilweise mit den Ergebnissen, sind aber wegen der Methodenunterschiede, der Kortisolmenge, der unterschiedlichen Zeitfenster und der Regionalhypothesen insgesamt nicht gut vergleichbar mit den Daten dieser Studie. Der Effekt einer Kortisolsuppression durch Dexamethason auf Ruhe-fMRT wurde bisher (Oktober 2012) nicht untersucht.

Zum anderen konnte ein prädiktiver Zusammenhang zwischen der Stärke der funktionellen Konnektivität in limbischen und paralimbischen Regionen in Ruhe, insbesondere des hippokampalen Netzwerks, und dem Ergebnis des Dex/CRH-Tests aufgedeckt werden. Da der Dex/CRH-Test das gesamte zerebrale Feedbacksystem „belastet“, kann aus den Ergebnissen abgeleitet werden, dass verschiedene Netzwerke – in beiden Korrelationsrichtungen – diese Testbelastung vorhersagen.

Somit wurde erstmals indirekt das Regulationssystem sichtbar gemacht, dass durch den Dex/CRH-Test belastet wird. Dominant waren hierbei hippokampale Netzwerke, aber auch Verbindungen zwischen Amygdala und Hippokampus und des subgenualen ACC. Eine besondere Rolle des Subiculus für die HPA-Achsenregulation deutet sich hier an, erfordert aber weitere Untersuchungen, auch bei höheren Feldstärken. Da die Dexamethasongabe ein Teilschritt des Dex/CRH-Test ist, ist es interessant, dass auch unter Dexamethasoneinfluss eine gezielte hippokampale Reduktion der Konnektivität gefunden wurde. Das hierarchisch gegliederte System der kortikalen Kontrolle der HPA-Achse spiegelt sich daher offensichtlich auch in der funktionellen Architektur der Ruhenetzwerke wieder. In dieser Hinsicht erwies sich das Ruhe-fMRT ohne Paradigma als nützliche Methode für die humane Stressbiologie-Forschung, wobei Verbesserungen der Auswertestrategie und höhere Feldstärken des Tomographen den Ansatz insgesamt noch verbesserbar machen.

Die konzentrations- und zeitabhängige Sensitivität der Ruhenetzwerke gegenüber Kortisoländerungen fügt sich, mit dem Muster der funktionellen Konnektivität, die die individuelle Regulation der HPA-Achse vorhersagt, zu einer Basis zusammen, die zukünftig als Grundlage für die Etablierung eines Stressbiomarkes dienen könnte.

V Literaturverzeichnis

Aihara M, Ida I, Yuuki N, Oshima A, Kurnano H, Takahashi K, Fukuda M, Oriuchi N, Endo K, Matsuda H, Mikuni M (2007) HPA axis dysfunction in unmedicated major depressive disorder and its normalization by pharmacotherapy correlates with alteration of neural activity in prefrontal cortex and limbic/paralimbic regions. *Psychiatry Research-Neuroimaging* 155:245-256.

Allen PJ (2010) EEG Instrumentation and Safety. In: *EEG-fMRI Physiological Basis, Technique, and Applications* (Mulert C, Lemieux L, eds), pp 115-133. Springer.

Amunts K, Kedo O, Kindler M, Pieperhoff P, Mohlberg H, Shah NJ, Habel U, Schneider F, Zilles K (2005) Cytoarchitectonic mapping of the human amygdala, hippocampal region and entorhinal cortex: intersubject variability and probability maps. *Anatomy and Embryology* 210:343-352.

Anand A, Li Y, Wang Y, Lowe MJ, Dziedzic M (2009) Resting state corticolimbic connectivity abnormalities in unmedicated bipolar disorder and unipolar depression. *Psychiatry Research-Neuroimaging* 171:189-198.

Andrade KC, Spoormaker VI, Dresler M, Wehrle R, Holsboer F, Samann PG, Czisch M (2011) Sleep spindles and hippocampal functional connectivity in human NREM sleep. *J Neurosci* 31:10331-10339.

Ashburner J, Friston KJ (2005) Unified segmentation. *Neuroimage* 26:839-851.

Attwell D, Laughlin SB (2001) An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 21:1133-1145.

Auer DP (2008) Spontaneous low-frequency blood oxygenation level-dependent fluctuations and functional connectivity analysis of the 'resting' brain. *Magnetic Resonance Imaging* 26:1055-1064.

Bamberger CM, Schulte HM, Chrousos GP (1996) Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocrine Reviews* 17:245-261.

Bartels M, Van den Berg M, Sluyter F, Boomsma DI, de Geus EJC (2003) Heritability of cortisol levels: review and simultaneous analysis of twin studies. *Psychoneuroendocrinology* 28:121-137.

Baum A, Gruneberg N (1997) Measurement of stress hormones. In: *Measuring stress: A guide for health and social scientists* (Cohen S KRGL, ed), pp 175-192. New York: Oxford University Press.

Beck AT, Steer RA (1984) Internal Consistencies of the Original and Revised Beck Depression Inventory. *Journal of Clinical Psychology* 40:1365-1367.

Beckmann CF, DeLuca M, Devlin JT, Smith SM (2005) Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 360:1001-1013.

Behzadi Y, Restom K, Liao J, Liu TT (2007) A component based noise correction method (CompCor) for BOLD and perfusion based fMRI. *Neuroimage* 37:90-101.

Bennett MR (2011) The prefrontal-limbic network in depression: Modulation by hypothalamus, basal ganglia and midbrain. *Progress in Neurobiology* 93:468-487.

Berger H (1929) Über das Elektroenzephalogramm des Menschen. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* 87:527-570.

Bergh FT, Kumpfel T, Trenkwalder C, Rupprecht R, Holsboer F (1999) Dysregulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis is related to the clinical course of MS. *Neurology* 53:772-777.

Bernard C. (1885) Leçons sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux végétaux. (Vulpian et Paul Bert, ed), pp 404-564. Paris.

Bhatnagar S, Huber R, Nowak N, Trotter P (2002) Lesions of the posterior paraventricular thalamus block habituation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to repeated restraint. *Journal of Neuroendocrinology* 14:403-410.

Binder EB (2010) FKBP5-A Common Candidate Gene for Stress-Related Psychiatric Disorders? *Biological Psychiatry* 67:107S-108S.

Binder EB, Kunzel HE, Nickel T, Kern N, Pfennig A, Majer M, Uhr M, Ising M, Holsboer F (2009) HPA-axis regulation at in-patient admission is associated with antidepressant therapy outcome in male but not in female depressed patients. *Psychoneuroendocrinology* 34:99-109.

Binder EB, et al. (2004) Polymorphisms in FKBP5 are associated with increased recurrence of depressive episodes and rapid response to antidepressant treatment. *Nature Genetics* 36:1319-1325.

Biswal B, Yetkin FZ, Haughton VM, Hyde JS (1995) Functional Connectivity in the Motor Cortex of Resting Human Brain Using Echo-Planar Mri. *Magnetic Resonance in Medicine* 34:537-541.

Biswal BB, VanKlyen J, Hyde JS (1997) Simultaneous assessment of flow and BOLD signals in resting-state functional connectivity maps. *Nmr in Biomedicine* 10:165-170.

Bloch F (1946) Nuclear Induction. *Physical Review* 70:460-474.

Boly M, Balteau E, Schnakers C, Degueldre C, Moonen G, Luxen A, Phillips C, Peigneux P, Maquet P, Laureys S (2007) Baseline brain activity fluctuations

predict somatosensory perception in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:12187-12192.

Bora E, Harrison BJ, Davey CG, Yucel M, Pantelis C (2012) Meta-analysis of volumetric abnormalities in cortico-striatal-pallidal-thalamic circuits in major depressive disorder. *Psychological Medicine* 42:671-681.

Borkenau P, Ostendorf F (2008) NEO-Fünf-Faktoren Inventar nach Costa und McCrae (NEO-FFI). Göttingen: Hogrefe Verlag.

bou-Elseoud A, Starck T, Remes J, Nikkinen J, Tervonen O, Kiviniemi V (2010) The Effect of Model Order Selection in Group PICA. *Human Brain Mapping* 31:1207-1216.

Boveroux P, Vanhaudenhuyse A, Bruno MA, Noirhomme Q, Lauwick S, Luxen A, Degueldre C, Plenevaux A, Schnakers C, Phillips C, Brichant JF, Bonhomme V, Maquet P, Greicius MD, Leureys S, Boly M (2010) Breakdown of within- and between-network Resting State Functional Magnetic Resonance Imaging Connectivity during Propofol-induced Loss of Consciousness. *Anesthesiology* 113:1038-1053.

Boyce WT, Ellis BJ (2005) Biological sensitivity to context: I. An evolutionary-developmental theory of the origins and functions of stress reactivity. *Development and Psychopathology* 17:271-301.

Boyle MP, Brewer JA, Funatsu M, Wozniak DF, Tsien JZ, Izumi Y, Muglia LJ (2005) Acquired deficit of forebrain glucocorticoid receptor produces depression-like changes in adrenal axis regulation and behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:473-478.

Bracht K (2009) Biomarker - Indikatoren für Diagnose und Therapie.

Braun AR, Balkin TJ, Wesensten NJ, Carson RE, Varga M, Baldwin P, Selbie S, Belenky G, Herscovitch P (1997) Regional cerebral blood flow throughout the sleep-wake cycle - An (H₂O)-O-15 PET study. *Brain* 120:1173-1197.

Briselli E, Garreffa G, Bianchi L, Bianciardi M, Macaluso E, Abbafati M, Marcianibe MG, Maraviglia B (2006) An independent component ballistocardiogram analysis-based approach on artifact removing. *Magnetic Resonance Imaging* 24:393-400.

Broyd SJ, Demanuele C, Debener S, Helps SK, James CJ, Sonuga-Barke EJS (2009) Default-mode brain dysfunction in mental disorders: A systematic review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 33:279-296.

Buchanan TW, Brechtel A, Sollers JJ, Lovallo WR (2001) Exogenous cortisol exerts effects on the startle reflex independent of emotional modulation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 68:203-210.

Buckner RL, Andrews-Hanna JR, Schacter DL (2008) The brain's default network - Anatomy, function, and relevance to disease. *Year in Cognitive Neuroscience* 2008 1124:1-38.

- Buckner RL, Vincent JL (2007) Unrest at rest: Default activity and spontaneous network correlations. *Neuroimage* 37:1091-1096.
- Bullmore E, Sporns O (2009) Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. *Nature Reviews Neuroscience* 10:186-198.
- Bullmore ET, Bassett DS (2011) Brain Graphs: Graphical Models of the Human Brain Connectome. *Annual Review of Clinical Psychology* 7:113-140.
- Burke HM, Davis MC, Otte C, Mohr DC (2005) Depression and cortisol responses to psychological stress: A meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* 30:846-856.
- Bush G, Luu P, Posner MI (2000) Cognitive and emotional influences in anterior cingulate cortex. *Trends in Cognitive Sciences* 4:215-222.
- Buxton RB (2002) Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging Principles and Techniques. Cambridge University Press.
- Campbell S, Marriott M, Nahmias C, MacQueen GM (2004) Lower hippocampal volume in patients suffering from depression: A meta-analysis. *American Journal of Psychiatry* 161:598-607.
- Cannon WB (1929) Bodily changes in pain, hunger, fear and rage. pp 404. Oxford, England: Appleton.
- Cannon WB (1932) The wisdom of the body. New York: Norton & Co.
- Carballedo A, Lisiecka D, Fagan A, Saleh K, Ferguson Y, Connolly G, Meaney J, Frodl T (2012) Early life adversity is associated with brain changes in subjects at family risk for depression.
- Chrousos GP, Gold PW (1992) The Concepts of Stress and Stress System Disorders - Overview of Physical and Behavioral Homeostasis. *Jama-Journal of the American Medical Association* 267:1244-1252.
- Claes S (2009) Glucocorticoid Receptor Polymorphisms in Major Depression. Glucocorticoids and Mood Clinical Manifestations, Risk Factors, and Molecular Mechanisms 1179:216-228.
- Clow A, Hucklebridge F, Stalder T, Evans P, Thorn L (2010) The cortisol awakening response: More than a measure of HPA axis function. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 35:97-103.
- Cole DM, Smith SM, Beckmann CF (2010) Advances and Pitfalls in the Analysis and Interpretation of Resting-State fMRI Data.
- Corbetta M (2012) Functional connectivity and neurological recovery. *Developmental Psychobiology* 54:239-253.

Cordes D, Haughton V, Carew JD, Arfanakis K, Maravilla K (2002) Hierarchical clustering to measure connectivity in fMRI resting-state data. *Magnetic Resonance Imaging* 20:305-317.

Cordes D, Haughton VM, Arfanakis K, Carew JD, Turski PA, Moritz CH, Quigley MA, Meyerand ME (2001) Frequencies contributing to functional connectivity in the cerebral cortex in "resting-state" data. *American Journal of Neuroradiology* 22:1326-1333.

Cunningham-Bussell AC, Root JC, Butler T, Tuescher O, Pan H, Epstein J, Weisholtz DS, Pavony M, Silverman ME, Goldstein MS, Altemus M, Cloitre M, LeDoux J, McEwen B, Stern E, Silbersweig D (2009) Diurnal cortisol amplitude and fronto-limbic activity in response to stressful stimuli. *Psychoneuroendocrinology* 34:694-704.

Czeh B, Perez-Cruz C, Fuchs E, Flugge G (2008) Chronic stress-induced cellular changes in the medial prefrontal cortex and their potential clinical implications: Does hemisphere location matter? *Behavioural Brain Research* 190:1-13.

Czisch M, Wehrle R, Stiegler A, Peters H, Andrade K, Holsboer F, Samann PG (2009) Acoustic Oddball during NREM Sleep: A Combined EEG/fMRI Study. *Plos One* 6:e749.

da Silva FL (2010) EEG: Origin and Measurement. In: *EEG-fMRI* (Mulert C, Lemieux L, eds), pp 19-38. Springer Verlag.

Dallman MF (1993) Stress Update - Adaptation of the Hypothalamic Pituitary-Adrenal Axis to Chronic Stress. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 4:62-69.

Damadian R (1971) Tumor Detection by Nuclear Magnetic Resonance. *Science* 171:1151-&.

Damadian R, Goldsmith M, Minkoff L (1977) NMR in cancer: XVI. FONAR image of the live human body. pp 97-100.

Damoiseaux JS, Greicius MD (2009) Greater than the sum of its parts: a review of studies combining structural connectivity and resting-state functional connectivity. *Brain Structure & Function* 213:525-533.

Damoiseaux JS, Rombouts SARB, Barkhof F, Scheltens P, Stam CJ, Smith SM, Beckmann CF (2006) Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:13848-13853.

Dantendorfer K, Amering M, Bankier A, Helbich T, Prayer D, Youssefzadeh S, Alexandrowicz R, Imhof H, Katschnig H (1997) A study of the effects of patient anxiety, perceptions and equipment on motion artifacts in magnetic resonance imaging. *Magnetic Resonance Imaging* 15:301-306.

Dayas CV, Buller KM, Crane JW, Xu J, Day TA (2001) Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive recruitment patterns in

the amygdala and in medullary noradrenergic cell groups. *European Journal of Neuroscience* 14:1143-1152.

de Kloet ER (1984) Function of Steroid-Receptor Systems in the Central Nervous-System. *Clinical Neuropharmacology* 7:272-280.

de Kloet ER (1991) Brain Corticosteroid Receptor Balance and Homeostatic Control. *Frontiers in Neuroendocrinology* 12:95-164.

de Kloet ER (1997) Why Dexamethasone Poorly Penetrates in Brain. *Stress* 2:13-20.

de Kloet ER (2004) Hormones and the stressed brain. *Stress: Current Neuroendocrine and Genetic Approaches* 1018:1-15.

de Kloet ER (2005) Stress, cortisol and cognition: Towards understanding a vulnerable phenotype for stress-related psychopathology. *Nordic Journal of Psychiatry* 59:398.

de Kloet ER, DeRijk RH, Meijer OC (2011) Corticosteroid Receptor Involvement in the Stress Response. In: *The Handbook of Stress: Neuropsychological Effects on the Brain* (Conrad CD, ed), pp 48-73. Hoboken, New Jersey: Wiley-Blackwell.

de Kloet ER, Joels M, Holsboer F (2005) Stress and the brain: From adaptation to disease. *Nature Reviews Neuroscience* 6:463-475.

de Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M (1998) Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocrine Reviews* 19:269-301.

De Luca M, Beckmann CF, De Stefano N, Matthews PM, Smith SM (2006) fMRI resting state networks define distinct modes of long-distance interactions in the human brain. *Neuroimage* 29:1359-1367.

De Luca M, Smith S, De Stefano N, Federico A, Matthews PM (2005) Blood oxygenation level dependent contrast resting state networks are relevant to functional activity in the neocortical sensorimotor system. *Experimental Brain Research* 167:587-594.

Debener S, Ullsperger M, Siegel M, Engel AK (2006) Single-trial EEG-fMRI reveals the dynamics of cognitive function. *Trends in Cognitive Sciences* 10:558-563.

Deco G, Corbetta M (2011) The Dynamical Balance of the Brain at Rest. *Neuroscientist* 17:107-123.

Dedovic K, D'Aguiar C, Pruessner JC (2009a) What Stress Does to Your Brain: A Review of Neuroimaging Studies. *Canadian Journal of Psychiatry-Revue Canadienne de Psychiatrie* 54:6-15.

Dedovic K, Duchesne A, Andrews J, Engert V, Pruessner JC (2009b) The brain and the stress axis: The neural correlates of cortisol regulation in response to stress. *Neuroimage* 47:864-871.

Dedovic K, Renwick R, Mahani NK, Engert V, Lupien SJ, Pruessner JC (2005) The Montreal Imaging Stress Task: using functional imaging to investigate the effects of perceiving and processing psychosocial stress in the human brain. *Journal of Psychiatry & Neuroscience* 30:319-325.

Dedovic K, Rexroth M, Wolff E, Duchesne A, Scherling C, Beaudry T, Lue SD, Lord C, Engert V, Pruessner JC (2009c) Neural correlates of processing stressful information: An event-related fMRI study. *Brain Research* 1293:49-60.

Deichmann R, Nöth U, Weiskopf N (2010) The Basis of Functional Magnetic Resonance Imaging. (Mulert C, Lemieux L, eds), pp 39-62. Springer.

DeRijk RH, Schaaf M, de Kloet ER (2002) Glucocorticoid receptor variants: clinical implications. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 81:103-122.

Deuschle M, Schweiger U, Gotthardt U, Weber B, Korner A, Schmider J, Standhardt H, Lammers CH, Krumm B, Heuser I (1998) The combined dexamethasone/corticotropin-releasing hormone stimulation test is more closely associated with features of diurnal activity of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical system than the dexamethasone suppression test. *Biological Psychiatry* 43:762-766.

DGKN (2012) Empfehlungen der deutschen Gesellschaft für klinische Neurophysiologie und funktionelle Bildgebung.

Dhabhar FS, McEwen B (1997) Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: A potential role for leukocyte trafficking. *Brain Behavior and Immunity* 11:286-306.

Diorio D, Viau V, Meaney MJ (1993) The Role of the Medial Prefrontal Cortex (Cingulate Gyrus) in the Regulation of Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Responses to Stress. *Journal of Neuroscience* 13:3839-3847.

Drevets WC, Price JL, Furey ML (2008) Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. *Brain Structure & Function* 213:93-118.

Drevets WC, Price JL, Simpson JR, Todd RD, Reich T, Vannier M, Raichle ME (1997) Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature* 386:824-827.

Drevets WC, Savitz J (2008) The Subgenual Anterior Cingulate Cortex in Mood Disorders. *Cns Spectrums* 13:663-681.

Duan XJ, Liao W, Liang DM, Qiu LH, Gao Q, Liu CY, Gong QY, Chen HF (2012) Large-Scale Brain Networks in Board Game Experts: Insights from a Domain-Related Task and Task-Free Resting State. *Plos One* 32532.

- Duman RS (2002) Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity. *European Psychiatry* 17:306S-310S.
- Duncan NW, Enzi B, Wiebking C, Northoff G (2011) Involvement of Glutamate in Rest-Stimulus Interaction Between Perigenual and Supragenual Anterior Cingulate Cortex: A Combined fMRI-MRS Study. *Human Brain Mapping* 32:2172-2182.
- Dunn JD, Orr SE (1984) Differential Plasma-Corticosterone Responses to Hippocampal-Stimulation. *Experimental Brain Research* 54:1-6.
- Edwards S, Evans P, Hucklebridge F, Clow A (2001) Association between time of awakening and diurnal cortisol secretory activity. *Psychoneuroendocrinology* 26:613-622.
- Ehnavall A, Sjogren M, Zachrisson OC, Agren H (2004) HPA axis activation determined by the CRH challenge test in patients with few versus multiple episodes of treatment-refractory depression. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 254:349-355.
- Eickhoff SB, Stephan KE, Mohlberg H, Grefkes C, Fink GR, Amunts K, Zilles K (2005) A new SPM toolbox for combining probabilistic cytoarchitectonic maps and functional imaging data. *Neuroimage* 25:1325-1335.
- Eysenck HJ, Eysenck SBG (1975) *Manual of the Eysenck Personality Questionnaire*. London: Hodder and Stoughton.
- Federenko IS, Nagamine M, Hellhammer DH, Wadhwa PD, Wust S (2004) The heritability of hypothalamus pituitary adrenal axis responses to psychosocial stress is context dependent. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 89:6244-6250.
- Ferris CF, Stolberg T (2010) Imaging the immediate non-genomic effects of stress hormone on brain activity. *Psychoneuroendocrinology* 35:5-14.
- Filippi M, Agosta F (2011) Structural and Functional Network Connectivity Breakdown in Alzheimer's Disease Studied with Magnetic Resonance Imaging Techniques. *Journal of Alzheimers Disease* 24:455-474.
- Foland-Ross LC, Hardin MG, Gotlib IH (2012) Neurobiological Markers of Familial Risk for Depression.
- Forth W, Henschler D, Rummel W (2009) *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. Urban und Fischer.
- Fox MD, Raichle ME (2007) Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nature Reviews Neuroscience* 8:700-711.
- Fox MD, Snyder AZ, Vincent JL, Corbetta M, Van Essen DC, Raichle ME (2005) The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional

networks. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 102:9673-9678.

Fox MD, Snyder AZ, Vincent JL, Raichle ME (2007) Intrinsic fluctuations within cortical systems account for intertrial variability in human Behavior. Neuron 56:171-184.

Fransson P, Skiold B, Engstrom M, Hallberg B, Mosskin M, Aden U, Lagercrantz H, Blennow M (2009) Spontaneous Brain Activity in the Newborn Brain During Natural Sleep-An fMRI Study in Infants Born at Full Term. Pediatric Research 66:301-305.

Fransson P, Skiold B, Horsch S, Nordell A, Blennow M, Lagercrantz H, Aden U (2007) Resting-state networks in the infant brain. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104:15531-15536.

Franz CE, York TP, Eaves LJ, Mendoza SP, Hauger RL, Hellhammer DH, Jacobson KC, Levine S, Lupien SJ, Lyons MJ, Prom-Wormley E, Xian H, Kremen WS (2010) Genetic and Environmental Influences on Cortisol Regulation Across Days and Contexts in Middle-Aged Men. Behavior Genetics 40:467-479.

Fries E, Dettenborn L, Kirschbaum C (2009) The cortisol awakening response (CAR): Facts and future directions. International Journal of Psychophysiology 72:67-73.

Friston KJ (2004) Introduction: experimental design and statistical parametric mapping. (Frackowiak RSJ, ed), Elsevier Science.

Friston KJ, Frith CD, Liddle PF, Frackowiak RSJ (1993) Functional Connectivity - the Principal-Component Analysis of Large (Pet) Data Sets. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism 13:5-14.

Frodl T, Jager M, Born C, Ritter S, Kraft E, Zetzsche T, Bottlender R, Leinsinger G, Reiser M, Moller HJ, Meisenzahl E (2008a) Anterior cingulate cortex does not differ between patients with major depression and healthy controls, but relatively large anterior cingulate cortex predicts a good clinical course. Psychiatry Research-Neuroimaging 163:76-83.

Frodl T, Jager M, Smajstrlova I, Born C, Bottlender R, Palladino T, Reiser M, Moller HJ, Meisenzahl EM (2008b) Effect of hippocampal and amygdala volumes on clinical outcomes in major depression: a 3-year prospective magnetic resonance imaging study. Journal of Psychiatry & Neuroscience 33:423-430.

Frodl T, O'Keane V (2012) How does the brain deal with cumulative stress? A review with focus on developmental stress, HPA axis function and hippocampal structure in humans.

Fulford AJ, Harbuz MS (2005) An Introduction to the HPA axis. In: Handbook of Stress and the Brain (Steckler NH, Kalin NH, Reul JM, eds), pp 43-65. Amsterdam: Elsevier B.V.

- Furay AR, Bruestle AE, Herman JP (2008) The Role of the Forebrain Glucocorticoid Receptor in Acute and Chronic Stress. *Endocrinology* 149:5482-5490.
- Gallagher BB, Flanigin HF, King DW, Littleton WH (1987) The Effect of Electrical-Stimulation of Medial Temporal-Lobe Structures in Epileptic Patients Upon Acth, Prolactin, and Growth-Hormone. *Neurology* 37:299-303.
- Gilbertson MW, Shenton ME, Ciszewski A, Kasai K, Lasko NB, Orr SP, Pitman RK (2002) Smaller hippocampal volume predicts pathologic vulnerability to psychological trauma. *Nature Neuroscience* 5:1242-1247.
- Gilmer WS, McKinney WT (2003) Early experience and depressive disorders: human and non-human primate studies. *Journal of Affective Disorders* 75:97-113.
- Glahn DC, Winkler AM, Kochunov P, Almasy L, Duggirala R, Carless MA, Curran JC, Olvera RL, Laird AR, Smith SM, Beckmann CF, Fox PT, Blangero J (2010) Genetic control over the resting brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:1223-1228.
- Gratton A, Sullivan RM (2005) Role of prefrontal cortex in stress responsivity. In: *Handbook of Stress and the Brain* (Steckler T, Kalin NH, Reul JM, eds), pp 807-818. Amsterdam: Elsevier B.V.
- Greicius M (2008) Resting-state functional connectivity in neuropsychiatric disorders. *Current Opinion in Neurology* 21:424-430.
- Greicius MD, Flores BH, Menon V, Glover GH, Solvason HB, Kenna H, Reiss AL, Schlaggar AF (2007) Resting-state functional connectivity in major depression: Abnormally increased contributions from subgenual cingulate cortex and thalamus. *Biological Psychiatry* 62:429-437.
- Greicius MD, Krasnow B, Reiss AL, Menon V (2003) Functional connectivity in the resting brain: A network analysis of the default mode hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100:253-258.
- Greicius MD, Menon V (2004) Default-mode activity during a passive sensory task: Uncoupled from deactivation but impacting activation. *Journal of Cognitive Neuroscience* 16:1484-1492.
- Greicius MD, Srivastava G, Reiss AL, Menon V (2004) Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: Evidence from functional MRI. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:4637-4642.
- Groeneweg FL, Karst H, de Kloet ER, Joels M (2011) Rapid non-genomic effects of corticosteroids and their role in the central stress response. *Journal of Endocrinology* 209:153-167.
- Gruber O, Hasan A, Scherk H, Wobrock T, Schneider-Axmann T, Ekawardhani S, Schmitt A, Backens M, Reith W, Meyer J, Falkai P (2012) Association of the brain-

derived neurotrophic factor val66met polymorphism with magnetic resonance spectroscopic markers in the human hippocampus: in vivo evidence for effects on the glutamate system. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 262:23-31.

Günther H (1986) 40 Jahre Kernresonanz - Zum Jubiläum einer folgenreichen Entdeckung. pp 173-177.

Gutberlet I (2009) Did you know.... Gilching: (c) Brain Products GmbH.

Gutman DA, Holtzheimer PE, Behrens TEJ, Johansen-Berg H, Mayberg HS (2009) A Tractography Analysis of Two Deep Brain Stimulation White Matter Targets for Depression. *Biological Psychiatry* 65:276-282.

Guyton AAHJ (2000) Textbook of Medical Physiology. Philadelphia.

Haller S, Bartsch AJ (2009) Pitfalls in fMRI. *European Radiology* 19:2689-2706.

Hamani C, Mayberg H, Snyder B, Giacobbe P, Kennedy S, Lozano AM (2009) Deep brain stimulation of the subcallosal cingulate gyrus for depression: anatomical location of active contacts in clinical responders and a suggested guideline for targeting Clinical article. *Journal of Neurosurgery* 111:1209-1215.

Hamani C, Mayberg H, Stone S, Laxton A, Haber S, Lozano AM (2011) The Subcallosal Cingulate Gyrus in the Context of Major Depression. *Biological Psychiatry* 69:301-308.

Hampson M, Driesen NR, Skudlarski P, Gore JC, Constable RT (2006) Brain connectivity related to working memory performance. *Journal of Neuroscience* 26:13338-13343.

Harris AP, Holmes MC, de Kloet ER, Chapman KE, Seckl JR (2012) Mineralocorticoid and glucocorticoid receptor balance in control of HPA axis and behaviour.

Harrison NA, Brydon L, Walker C, Gray MA, Steptoe A, Dolan RJ, Critchley HD (2009) Neural Origins of Human Sickness in Interoceptive Responses to Inflammation. *Biological Psychiatry* 66:415-422.

Hautzinger M, Bailer M, Worall H, Keller F (1995) *Beck-Depressionis-Inventar (BDI). Testhandbuch*.

Hayasaka S, Phan KL, Liberzon I, Worsley KJ, Nichols TE (2004) Nonstationary cluster-size inference with random field and permutation methods. *Neuroimage* 22:676-687.

He BJ, Shulman GL, Snyder AZ, Corbetta M (2007) The role of impaired neuronal communication in neurological disorders. *Current Opinion in Neurology* 20:655-660.

Hebb DO, Martinez JL, Glickman SE (1994) The Organization of Behavior - A Neuropsychological Theory - Hebb,do. Contemporary Psychology 39:1018-1020.

Hecht D (2010) Depression and the hyperactive right-hemisphere. Neuroscience Research 68:77-87.

Heeger DJ, Ress D (2002) What does fMRI tell us about neuronal activity? Nature Reviews Neuroscience 3:142-151.

Heim C, Newport DJ, Mletzko T, Miller AH, Hemeroff CB (2008) The link between childhood trauma and depression: Insights from HPA axis studies in humans. Psychoneuroendocrinology 33:693-710.

Heine L, Soddu A, Gomez F, Vanhaudenhuyse A, Tshibanda L, Thonnard M, Charland-Verville V, Kirsch M, Laureys S (2012) Resting state networks and consciousness

Alterations of multiple resting state network connectivity in physiological, pharmacological, and pathological consciousness states. Front Psychology.

Hellenthal W (2002) Physik für Mediziner und Biologen. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH.

Henckens MJAG, van Wingen GA, Joels M, Fernandez G (2010) Time-Dependent Effects of Corticosteroids on Human Amygdala Processing. Journal of Neuroscience 30:12725-12732.

Henckens MJAG, van Wingen GA, Joels M, Fernandez G (2012) Corticosteroid induced decoupling of the Amygdala in Men. Cerebral Cortex 22:2336-2345.

Herbert J, Goodyer IM, Grossman AB, Hastings MH, de Kloet ER, Lightman SL, Lupien SJ, Roozendaal B, Seckl JR (2006) Do corticosteroids damage the brain? Journal of Neuroendocrinology 18:393-411.

Herman JP (2009) Stress response: neural and feedback regulation of the HPA axis. In: Encyclopedia of Neuroscience (Squire LR, ed), pp 505-510. Amsterdam: Elsevier.

Herman JP (2011) Central Nervous System Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Stress Response. In: The Handbook of Stress: Neuropsychological Effects on the Brain (Cherly D. Conrad, ed), Blackwell Publishing Ltd.

Herman JP, Cullinan WE, Young EA, Akil H, Watson SJ (1992) Selective Forebrain Fiber Tract Lesions Implicate Ventral Hippocampal Structures in Tonic Regulation of Paraventricular Nucleus Corticotropin-Releasing Hormone (Crh) and Arginine Vasopressin (Avp) Messenger-Rna Expression. Brain Research 592:228-238.

Herman JP, Dolgas CM, Carlson SL (1998) Ventral subiculum regulates hypothalamo-pituitary-adrenocortical and behavioural responses to cognitive stressors. Neuroscience 86:449-459.

Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, Ulrich-Lai Y, Ostrander MM, Choi DC, Cullinan WE (2003) Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Frontiers in Neuroendocrinology* 24:151-180.

Herman JP, Mueller NK (2006) Role of the ventral subiculum in stress integration. *Behavioural Brain Research* 174:215-224.

Herman JP, Mueller NK, Figueiredo H (2004) Role of GABA and glutamate circuitry in hypothalamo-pituitary-adrenocortical stress integration. *Stress: Current Neuroendocrine and Genetic Approaches* 1018:35-45.

Herman JP, Ostrander MM, Mueller NK, Figueiredo H (2005) Limbic system mechanisms of stress regulation: Hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 29:1201-1213.

Herman JP, Watson SJ, Chao HM, Coirini H, Mcewen BS (1993) Diurnal Regulation of Glucocorticoid Receptor and Mineralocorticoid Receptor Messenger-Rnas in Rat Hippocampus. *Molecular and Cellular Neuroscience* 4:181-190.

Hermans E (2002) SPM starter's guide. Introductory manual developed for neuroimaging courses.

Herrmann CS, Debener S (2008) Simultaneous recording of EEG and BOLD responses: A historical perspective. *International Journal of Psychophysiology* 67:161-168.

Heuser I (1998) The hypothalamic-pituitary-adrenal system in depression. *Pharmacopsychiatry* 31:10-13.

Heuser I, Lammers CH (2003) Stress and the brain. *Neurobiology of Aging* 24:S69-S76.

Heuser I, Yassouridis A, Holsboer F (1994a) The Combined Dexamethasone Crh Test - A Refined Laboratory Test for Psychiatric-Disorders. *Journal of Psychiatric Research* 28:341-356.

Heuser IJ, Gotthardt U, Schweiger U, Schmider J, Lammers CH, Dettling M, Holsboer F (1994b) Age-Associated Changes of Pituitary-Adrenocortical Hormone Regulation in Humans - Importance of Gender. *Neurobiology of Aging* 15:227-231.

Hinkelmann K, Moritz S, Botzenhardt J, Riedesel K, Wiedemann K, Kellner M, Otte C (2009) Cognitive Impairment in Major Depression: Association with Salivary Cortisol. *Biological Psychiatry* 66:879-885.

Hoge RD, Atkinson J, Gill B, Crelier GR, Marrett S, Pike GB (1999) Linear coupling between cerebral blood flow and oxygen consumption in activated human cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96:9403-9408.

- Holsboer F (1983) The Dexamethasone Suppression Test in Depressed-Patients - Clinical and Biochemical Aspects. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 19:251-257.
- Holsboer F (1987) Corticotropin-Releasing Hormone in the Hypercortisolism of Depression and Cushing's-Disease. *New England Journal of Medicine* 316:217.
- Holsboer F (1989) Psychiatric Implications of Altered Limbic-Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Activity. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 238:302-322.
- Holsboer F (2000) The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology* 23:477-501.
- Holsboer F (2001) Stress, hypercortisolism and corticosteroid receptors in depression: implications for therapy. *Journal of Affective Disorders* 62:77-91.
- Holsboer F, Barden N (1996) Antidepressants and hypothalamic pituitary adrenocortical regulation. *Endocrine Reviews* 17:187-205.
- Holsboer F, Ising M (2010) Stress Hormone Regulation: Biological Role and Translation into Therapy. *Annual Review of Psychology* 61:81-109.
- Holsboer F, Lauer CJ, Schreiber W, Krieg JC (1995) Altered Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Regulation in Healthy-Subjects at High Familial Risk for Affective-Disorders. *Neuroendocrinology* 62:340-347.
- Holsboer F, Liebl R, Hofschuster E (1982) Repeated Dexamethasone Suppression Test During Depressive-Illness - Normalization of Test Result Compared with Clinical Improvement. *Journal of Affective Disorders* 4:93-101.
- Holsboer-Trachsler E, Stohler R, Hatzinger M (1991) Repeated Administration of the Combined Dexamethasone-Human Corticotropin Releasing Hormone Stimulation Test During Treatment of Depression. *Psychiatry Research* 38:163-171.
- Homberg JR (2012) The stress-coping (mis)match hypothesis for nature x nurture interactions. *Brain Research* 1432:114-121.
- Hopfinger JB, Wayne K, Song A (2005) Combining electrophysiology with structural and functional neuroimaging ERPs, PET, MRI, and fMRI. (Handy TC, ed), pp 345. Massachusetts Institute of Technology.
- Horowitz SG, Fukunaga M, de Zwart JA, van Gelderen P, Fulton SC, Balkin TJ, Duyn JH (2008) Low frequency BOLD fluctuations during resting wakefulness and light sleep: A simultaneous EEG-fMRI study. *Human Brain Mapping* 29:671-682.
- Horwitz B (2003) The elusive concept of brain connectivity. *Neuroimage* 19:466-470.

Ising M, Binder EB, Dose T, Horstmann S, Kern N, Kloiber S, Kunzel HE, Lucae S, Pfennig A, Unschuld PG, Modell S, Holsboer F (2005a) Change in HPA system function predicts treatment response in depression. *Pharmacopsychiatry* 38:251.

Ising M, Horstmann S, Kloiber S, Lucae S, Binder EB, Kern N, Kunzel HE, Pfennig A, Uhr M, Holsboer F (2007) Combined dexamethasone/corticotropin releasing hormone test predicts treatment response in major depression - A potential biomarker? *Biological Psychiatry* 62:47-54.

Ising M, Kunzel HE, Binder EB, Nickel T, Modell S, Holsboer F (2005b) The combined dexamethasone/CRH test as a potential surrogate marker in depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 29:1085-1093.

Ising M, Lauer CJ, Holsboer F, Modell S (2005c) The Munich vulnerability study on affective disorders: premorbid neuroendocrine profile of affected high-risk probands. *Journal of Psychiatric Research* 39:21-28.

Jacobson L, Sapolsky R (1991) The Role of the Hippocampus in Feedback-Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Axis. *Endocrine Reviews* 12:118-134.

Jahn AL, Fox AS, Abercrombie HC, Shelton SE, Oakes TR, Davidson RJ, Kalin NH (2010) Subgenual Prefrontal Cortex Activity Predicts Individual Differences in Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Activity Across Different Contexts. *Biological Psychiatry* 67:175-181.

Jankord R, Herman JP (2008) Limbic Regulation of Hypothalamo-Pituitary-Adrenocortical Function during Acute and Chronic Stress. *Stress, Neurotransmitters, and Hormones: Neuroendocrine and Genetic Mechanisms* 1148:64-73.

Joels M, de Kloet ER (1994) Mineralocorticoid and Glucocorticoid Receptors in the Brain - Implications for Ion Permeability and Transmitter Systems. *Progress in Neurobiology* 43:1-36.

Johnstone T, van Reekum CM, Urry HL, Kalin NH, Davidson RJ (2007) Failure to regulate: Counterproductive recruitment of top-down prefrontal-subcortical circuitry in major depression. *Journal of Neuroscience* 27:8877-8884.

Kapogiannis D, Reiter DA, Willette AA, Mattson MP (2012) Posteromedial cortex glutamate and GABA predict intrinsic functional connectivity of the default mode network. *Neuroimage* 18:112-119.

Kaufmann C, Wehrle R, Wetter TC, Holsboer F, Auer DP, Pollmacher T, Czisch M (2006) Brain activation and hypothalamic functional connectivity during human non-rapid eye movement sleep: an EEG/fMRI study. *Brain* 129:655-667.

Keck ME (2006) Corticotropin-releasing factor, vasopressin and receptor systems in depression and anxiety. *Amino Acids* 31:241-250.

Keck ME, Holsboer F (2001) Hyperactivity of CRH neuronal circuits as a target for therapeutic interventions in affective disorders. *Peptides* 22:835-844.

Kemeny ME (2003) The psychobiology of stress. *Current Directions in Psychological Science* 12:124-129.

Kern S, Oakes TR, Stone CK, McAuliff EM, Kirschbaum C, Davidson RJ (2008) Glucose metabolic changes in the prefrontal cortex are associated with HPA axis response to a psychosocial stressor. *Psychoneuroendocrinology* 33:517-529.

Kirschbaum C, Prussner JC, Stone AA, Federenko I, Gaab J, Lintz D, Schommer N, Hellhammer DH (1995) Persistent High Cortisol Responses to Repeated Psychological Stress in A Subpopulation of Healthy-Men. *Psychosomatic Medicine* 57:468-474.

Kirschbaum C, Wust S, Faig HG, Hellhammer DH (1992a) Heritability of Cortisol Responses to Human Corticotropin-Releasing Hormone, Ergometry, and Psychological Stress in Humans. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 75:1526-1530.

Kirschbaum C, Wust S, Hellhammer D (1992b) Consistent Sex-Differences in Cortisol Responses to Psychological Stress. *Psychosomatic Medicine* 54:648-657.

Knoops AJG, Gerritsen L, van der Graaf Y, Mali WPTM, Geerlings MI (2010) Basal Hypothalamic Pituitary Adrenal Axis Activity and Hippocampal Volumes: The SMART-Medea Study. *Biological Psychiatry* 67:1191-1198.

Koch W, Teipel S, Mueller S, Benninghoff J, Wagner M, Bokde ALW, Hampel H, Coates U, Reiser M, Meindl T (2012) Diagnostic power of default mode network resting state fMRI in the detection of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 33:466-478.

Koch W, Teipel S, Mueller S, Buerger K, Bokde ALW, Hampel H, Coates U, Reiser M, Meindl T (2010) Effects of aging on default mode network activity in resting state fMRI: Does the method of analysis matter? *Neuroimage* 51:280-287.

Kohli MA, et al. (2011) The Neuronal Transporter Gene SLC6A15 Confers Risk to Major Depression. *Neuron* 70:252-265.

Korte SM, Koolhaas JM, Wingfield JC, McEwen BS (2005) The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 29:3-38.

Kudielka BM, Hellhammer DH, Wust S (2009) Why do we respond so differently? Reviewing determinants of human salivary cortisol responses to challenge. *Psychoneuroendocrinology* 34:2-18.

Kunzel HE, Binder EB, Nickel T, Ising M, Fuchs B, Majer M, Pfennig A, Ernst G, Kern N, Schmid DA, Uhr M, Holsboer F, Modell S (2003) Pharmacological and nonpharmacological factors influencing hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis

reactivity in acutely depressed psychiatric in-patients, measured by the Dex-CRH test. *Neuropsychopharmacology* 28:2169-2178.

Lammers CH, GarciaBorreguero D, Schmider J, Gotthardt U, Dettling M, Holsboer F, Heuser IJE (1995) Combined dexamethasone/corticotropin-releasing hormone test in patients with schizophrenia and in normal controls .2. *Biological Psychiatry* 38:803-807.

Laufs H (2008) Endogenous brain oscillations and related networks detected by surface EEG-combined fMRI. *Human Brain Mapping* 29:762-769.

Lauterbur PC (1973) Image Formation by Induced Local Interactions - Examples Employing Nuclear Magnetic-Resonance. *Nature* 242:190-191.

Laux L, GLanzmann P, Schaffner P, Spielberger CD (1981) Das State-Trait-Angstinventar Testmappe mit Handanweisung, Fragebogen STAI-G Form X 1 und X 2. Beltz.

Lee L, Harrison LM, Mechelli A (2003) A report of the functional connectivity workshop, Dusseldorf 2002. *Neuroimage* 19:457-465.

Lewisa CM, Baldassarre A, Comitteri G, Romani GL, Corbetta M (2009) Learning sculpts the spontaneous activity of the resting human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106:17558-17563.

Liston C, McEwen BS, Casey BJ (2009) Psychosocial stress reversibly disrupts prefrontal processing and attentional control. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106:912-917.

Liu ZF, Xu C, Xu Y, Wang YF, Zhao B, Lv YT, Cao XH, Zhang KR, Du CX (2010) Decreased regional homogeneity in insula and cerebellum: A resting-state fMRI study in patients with major depression and subjects at high risk for major depression. *Psychiatry Research-Neuroimaging* 182:211-215.

Lovaglio WR (2005) *Stress and Health Biological and Psychological Interactions*. Sage Publications Ltd.

Lovaglio WR, Robinson JL, Glahn DC, Fox PT (2010) Acute effects of hydrocortisone on the human brain: An fMRI study. *Psychoneuroendocrinology* 35:15-20.

Lowry CA (2002) Functional subsets of serotonergic neurones: Implications for control of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Journal of Neuroendocrinology* 14:911-923.

Lozano AM, Giacobbe P, Hamani C, Rizvi SJ, Kennedy SH, Kolivakis TT, Debonnel G, Sadikot AF, Lam RW, Howard AK, Ilcewicz-Klimek M, Honey CR, Mayberg HS (2012) A multicenter pilot study of subcallosal cingulate area deep brain stimulation for treatment-resistant depression. *Journal of Neurosurgery* 116:315-322.

- Luchinger R, Michels L, Martin E, Brandeis D (2011) EEG-BOLD correlations during (post-)adolescent brain maturation. *Neuroimage* 56:1493-1505.
- Lupien SJ, McEwen B (1997) The acute effects of corticosteroids on cognition: Integration of animal and human model studies. *Brain Research Reviews* 24:1-27.
- MacLulich AMJ, Ferguson KJ, Wardlaw JM, Starr JM, Deary IJ, Seckl JR (2006) Smaller left anterior cingulate cortex volumes are associated with impaired hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation in healthy elderly men. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 91:1591-1594.
- Makara GB, Haller J (2001) Non-genomic effects of glucocorticoids in the neural system - Evidence, mechanisms and implications. *Progress in Neurobiology* 65:367-390.
- Margulies DS, Bottger J, Long XY, Lv YT, Kelly C, Schafer A, Goldhahn D, Abbushi A, Milham MP, Lohmann G, Villringer A (2010) Resting developments: a review of fMRI post-processing methodologies for spontaneous brain activity. *Magnetic Resonance Materials in Physics Biology and Medicine* 23:289-307.
- Margulies DS, Kelly AMC, Uddin LQ, Biswal BB, Castellanos FX, Milham MP (2007) Mapping the functional connectivity of anterior cingulate cortex. *Neuroimage* 37:579-588.
- Marx E, Deutschlander A, Stephan T, Dieterich M, Wiesmann M, Brandt T (2004) Eyes open and eyes closed as rest conditions: impact on brain activation patterns. *Neuroimage* 21:1818-1824.
- Matthews SC, Strigo IA, Simmons AN, Yang TT, Paulus MP (2008) Decreased functional coupling of the amygdala and supragenual cingulate is related to increased depression in unmedicated individuals with current major depressive disorder. *Journal of Affective Disorders* 111:13-20.
- Maxwell JD, Boyle JA, Greig WR, Buchanan WW (1969) Plasma corticosteroids in healthy twin pairs. *J Med Genet* 6:294-297.
- Mayberg HS (1997) Limbic-cortical dysregulation: A proposed model of depression. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 9:471-481.
- Mayberg HS, Lozano AM, Voon V, McNeely HE, Seminowicz D, Hamani C, Schwab JM, Kennedy SH (2005) Deep brain stimulation for treatment-resistant depression. *Neuron* 45:651-660.
- McEwen B (1998a) Protective and damaging effects of stress mediators. *New England Journal of Medicine* 338:171-179.
- McEwen B (1998b) Stress, adaptation, and disease - Allostasis and allostatic load. *Neuroimmunomodulation* 840:33-44.
- McEwen B (2005) Glucocorticoids, depression, and mood disorders: structural remodeling in the brain. *Metabolism-Clinical and Experimental* 54:20-23.

- McEwen B, Dekloet ER, Rostene W (1986) Adrenal-Steroid Receptors and Actions in the Nervous-System. *Physiological Reviews* 66:1121-1188.
- McEwen B, Gianaros PJ (2010) Central role of the brain in stress and adaptation: Links to socioeconomic status, health, and disease. *Biology of Disadvantage: Socioeconomic Status and Health* 1186:190-222.
- McEwen B, Stellar E (1993) Stress and the Individual - Mechanisms Leading to Disease. *Archives of Internal Medicine* 153:2093-2101.
- Mckay MS, Zakzanis KK (2010) The impact of treatment on HPA axis activity in unipolar major depression. *Journal of Psychiatric Research* 44:183-192.
- McKinnon MC, Yucel K, Nazarov A, MacQueen GM (2009) A meta-analysis examining clinical predictors of hippocampal volume in patients with major depressive disorder. *Journal of Psychiatry & Neuroscience* 34:41-54.
- Meda SA, Gill A, Stevens MC, Lorenzoni RP, Glahn DC, Calhoun VD, Sweeney JA, Tamminga CA, Keshavan MS, Thaker G, Pearlson GD (2012) Differences in Resting-State Functional Magnetic Resonance Imaging Functional Network Connectivity Between Schizophrenia and Psychotic Bipolar Probands and Their Unaffected First-Degree Relatives. *Biological Psychiatry* 71:881-889.
- Meikle AW, Stringham JD, Woodward MG, Bishop DT (1988) Heritability of Variation of Plasma-Cortisol Levels. *Metabolism-Clinical and Experimental* 37:514-517.
- Mildvan D, Landay A, DeGruttola V, Machado SG, Kagan J (1997) An approach to the validation of markers for use in AIDS clinical trials. *Clinical Infectious Diseases* 24:764-774.
- Miller GE, Chen E, Zhou ES (2007) If it goes up, must it come down? Chronic stress and the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in humans. *Psychological Bulletin* 133:25-45.
- Modell S, Lauer CJ, Schreiber W, Huber J, Krieg JC, Holsboer F (1998) Hormonal response pattern in the combined DEX-CRH test is stable over time in subjects at high familial risk for affective disorders. *Neuropsychopharmacology* 18:253-262.
- Muehlhan M, Lueken U, Wittchen HU, Kirschbaum C (2011) The scanner as a stressor: Evidence from subjective and neuroendocrine stress parameters in the time course of a functional magnetic resonance imaging session. *International Journal of Psychophysiology* 79:118-126.
- Muller MB, Uhr M, Holsboer F, Keck ME (2004) Hypothalamic-pituitary-adrenocortical system and mood disorders: Highlights from mutant mice. *Neuroendocrinology* 79:1-12.
- Murphy K, Birn RM, Handwerker DA, Jones TB, Bandettini PA (2009) The impact of global signal regression on resting state correlations: Are anti-correlated networks introduced? *Neuroimage* 44:893-905.

Nater UM, Hoppmann C, Klumb PL (2010) Neuroticism and conscientiousness are associated with cortisol diurnal profiles in adults-Role of positive and negative affect. *Psychoneuroendocrinology* 35:1573-1577.

Niedermeyer E (2004) *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields*. Lippincott Williams & Wilkins.

O'Mara S (2005) The subiculum: what it does, what it might do, and what neuroanatomy has yet to tell us. *Journal of Anatomy* 207:271-282.

Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW (1990a) Brain Magnetic-Resonance-Imaging with Contrast Dependent on Blood Oxygenation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87:9868-9872.

Ogawa S, Lee TM, Nayak AS, Glynn P (1990b) Oxygenation-Sensitive Contrast in Magnetic-Resonance Image of Rodent Brain at High Magnetic-Fields. *Magnetic Resonance in Medicine* 14:68-78.

Olbrich S, Mulert C, Karch S, Trenner M, Leicht G, Pogarell O, Hegerl U (2009) EEG-vigilance and BOLD effect during simultaneous EEG/fMRI measurement. *Neuroimage* 45:319-332.

Olejniczak P (2006) Neurophysiologic basis of EEG. *Journal of Clinical Neurophysiology* 23:186-189.

Ongur D, Drevets WC, Price JL (1998) Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:13290-13295.

Otto MW, Yeo RA, Dougher MJ (1987) Right-Hemisphere Involvement in Depression - Toward A Neuropsychological Theory of Negative Affective Experiences. *Biological Psychiatry* 22:1201-1215.

Palazidou E (2012) The neurobiology of depression. *British Medical Bulletin* 101:127-145.

Papagni SA, Benetti S, Arulanantham S, McCrory E, McGuire P, Mechelli A (2011) Effects of stressful life events on human brain structure: A longitudinal voxel-based morphometry study. *Stress-the International Journal on the Biology of Stress* 14:227-232.

Pariante CM (2004) Glucocorticoid receptor function in vitro in patients with major depression. *Stress-the International Journal on the Biology of Stress* 7:209-219.

Pariante CM, Lightman SL (2008) The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends in Neurosciences* 31:464-468.

Pauling L (1935) The oxygen equilibrium of hemoglobin and its structural interpretation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 21:186-191.

Peters S, Cleare AJ, Papadopoulos A, Fu CHY (2011) Cortisol responses to serial MRI scans in healthy adults and in depression. *Psychoneuroendocrinology* 36:737-741.

Phillips ML (2003) Understanding the neurobiology of emotion perception: implications for psychiatry. *British Journal of Psychiatry* 182:190-192.

Piazza JR, Almeida DM, Dmitrieva NO, Klein LC (2010) Frontiers in the Use of Biomarkers of Health in Research on Stress and Aging. *Journals of Gerontology Series B-Psychological Sciences and Social Sciences* 65:513-525.

Pizzagalli DA, Peccoralo LA, Davidson RJ, Cohen JD (2006) Resting anterior cingulate activity and abnormal responses to errors in subjects with elevated depressive symptoms: A 128-channel EEG study. *Human Brain Mapping* 27:185-201.

Price JL (1999) Prefrontal cortical networks related to visceral function and mood. Advancing from the Ventral Striatum to the Extended Amygdala 877:383-396.

Pruessner JC, Baldwin MW, Dedovic K, Renwick R, Mahani NK, Lord C, Meaney M, Lupien S (2005) Self-esteem, locus of control, hippocampal volume, and cortisol regulation in young and old adulthood. *Neuroimage* 28:815-826.

Pruessner JC, Declovis K, Khalili-Mahani N, Engert V, Pruessner M, Buss C, Renwick R, Dagher A, Meaney MJ, Lupien S (2008) Deactivation of the limbic system during acute psychosocial stress: Evidence from positron emission tomography and functional magnetic resonance Imaging studies. *Biological Psychiatry* 63:234-240.

Pruessner JC, Hellhammer DH, Kirschbaum C (1999) Burnout, perceived stress, and cortisol responses to awakening. *Psychosomatic Medicine* 61:197-204.

Purcell EM, Torrey HC, Pound RV (1946) Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. pp 37.

Radley JJ, Arias CM, Sawchenko PE (2006) Regional differentiation of the medial prefrontal cortex in regulating adaptive responses to acute emotional stress. *Journal of Neuroscience* 26:12967-12976.

Radley JJ, Gosselink KL, Sawchenko PE (2009) A Discrete GABAergic Relay Mediates Medial Prefrontal Cortical Inhibition of the Neuroendocrine Stress Response. *Journal of Neuroscience* 29:7330-7340.

Raison CL, Miller AH (2003) When not enough is too much: The role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. *American Journal of Psychiatry* 160:1554-1565.

Rechtschaffen A, Kales A (1968) A Manual of Standardized Terminology, Techniques and Scoring System For Sleep Stages of Human Subjects.

Redgate ES, Fahringer EE (1973) Comparison of Pituitary-Adrenal Activity Elicited by Electrical-Stimulation of Preoptic, Amygdaloid and Hypothalamic Sites in Rat-Brain. *Neuroendocrinology* 12:334-343.

Reul JMHM, Gesing A, Droste S, Stec ISM, Weber A, Bachmann C, Bilang-Bleuel A, Holsboer F, Linthorst ACE (2000) The brain mineralocorticoid receptor: greedy for ligand, mysterious in function. *European Journal of Pharmacology* 405:235-249.

Rombouts S, Scheltens P (2005) Functional Connectivity in Elderly Controls and AD Patients Using Resting State fMRI: A Pilot Study. pp 115-116.

Rombouts S, Stam CJ, Kuijter JPA, Scheltens P, Barkhof F (2003) Identifying confounds to increase specificity during a "no task condition" - Evidence for hippocampal connectivity using fMRI. *Neuroimage* 20:1236-1245.

Rosazza C, Minati L (2011) Resting-state brain networks: literature review and clinical applications. *Neurological Sciences* 32:773-785.

Rosenkranz K, Lemieux L (2010) Present and future of simultaneous EEG-fMRI. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* 23:309-316.

Roy AK, Shehzad Z, Margulies DS, Kelly AMC, Uddin LQ, Gotimer K, Biswal BB, Castellanos FX, Milham MP (2009) Functional connectivity of the human amygdala using resting state fMRI. *Neuroimage* 45:614-626.

Rubin RT, Mandell AJ, Crandall PH (1966) Corticosteroid Responses to Limbic Stimulation in Man - Localization of Stimulus Sites. *Science* 153:767-&.

Ruess A, Mai J (2007) Stress - und kein Ende. pp Handelsblatt 2007.

Sacher J, Neumann J, Funfstuck T, Soliman A, Villringer A, Schroeter ML (2012) Mapping the depressed brain: A meta-analysis of structural and functional alterations in major depressive disorder. *Journal of Affective Disorders* 140:142-148.

Sadaghiani S, Hesselmann G, Kleinschmidt A (2009) Distributed and Antagonistic Contributions of Ongoing Activity Fluctuations to Auditory Stimulus Detection. *Journal of Neuroscience* 29:13410-13417.

Salvador R, Suckling J, Coleman MR, Pickard JD, Menon D, Bullmore E (2005) Neurophysiological architecture of functional magnetic resonance images of human brain. *Cerebral Cortex* 15:1332-1342.

Sämann PG, Wehrle R, Hoehn D, Spoormaker VI, Peters H, Tully C, Holsboer F, Czisch M (2011) Development of the Brain's Default Mode Network from Wakefulness to Slow Wave Sleep. *Cerebral Cortex* 21:2082-2093.

Sanchez MM, Young LJ, Plotsky PM, Insel TR (2000) Distribution of corticosteroid receptors in the rhesus brain: Relative absence of glucocorticoid receptors in the hippocampal formation. *Journal of Neuroscience* 20:4657-4668.

- Sapolsky RM (2000a) Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Archives of General Psychiatry* 57:925-935.
- Sapolsky RM (2000b) The possibility of neurotoxicity in the hippocampus in major depression: A primer on neuron death. *Biological Psychiatry* 48:755-765.
- Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS (1986) The Neuroendocrinology of Stress and Aging - the Glucocorticoid Cascade Hypothesis. *Endocrine Reviews* 7:284-301.
- Sawchenko PE, Li HY, Ericsson A (2000) Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms. *Biological Basis for Mind Body Interactions* 122:61-78.
- Schmidt CW (2006) Signs of the times - Biomarkers in perspective. *Environmental Health Perspectives* 114:A700-A705.
- Schmitz TW, Johnson SC (2007) Relevance to self: A brief review and framework of neural systems underlying appraisal. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 31:585-596.
- Schneiderman N, Ironson G, Siegel SD (2005) Stress and health: Psychological, behavioral, and biological determinants. *Annual Review of Clinical Psychology* 1:607-628.
- Schommer NC, Kudielka BM, Hellhammer DH, Kirschbaum C (1999) No evidence for a close relationship between personality traits and circadian cortisol rhythm or a single cortisol stress response. *Psychological Reports* 84:840-842.
- Schreiber W, Lauer CJ, Krumrey K, Holsboer F, Krieg JC (1996) Dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in panic disorder. *Neuropsychopharmacology* 15:7-15.
- Schule C (2007) Neuroendocrinological mechanisms of actions of antidepressant drugs. *Journal of Neuroendocrinology* 19:213-226.
- Schule C, Baghai TC, Eser D, Hafner S, Born C, Herrmann S, Rupprecht R (2009) The Combined Dexamethasone/CRH Test (DEX/CRH Test) and Prediction of Acute Treatment Response in Major Depression. *Plos One*.
- Schulz KH, Heesen C, Gold SM (2005) The concept of allostasis and allostatic load: Psychoneuroimmunological findings. *Psychotherapie Psychosomatik Medizinische Psychologie* 55:452-461.
- Schwartz ML, Tator CH, Hoffman HJ (1972) Uptake of Hydrocortisone in Mouse Brain and Ependymoblastoma. *Journal of Neurosurgery* 36:178-&.
- Scott LV, Dinan TG (1998) Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: Implications for the pathophysiology of depression. *Life Sciences* 62:1985-1998.

- Seckl JR, Dickson KL, Yates C, Fink G (1991) Distribution of Glucocorticoid and Mineralocorticoid Receptor Messenger-Rna Expression in Human Postmortem Hippocampus. *Brain Research* 561:332-337.
- Selye H (1936) A syndrome produced by diverse nocuous agents. *Nature* 138:32.
- Selye H (1950) Stress and the General adaptation syndrome. *British Medical Journal* 1383-1392.
- Selye H (1953) Einführung in die Lehre vom Adaptationssyndrom. Thieme Verlag.
- Selye H (1973) The Evolution of the Stress Concept: The originator of the concept traces its development from the discovery in 1936 of the alarm reaction to modern therapeutic applications of syntoxic and catatonic hormones. *American Scientist* 61:692-699.
- Selye H (1976) Forty Years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. *CMAJ* 115:53-56.
- Shah PJ, Ebmeier KP, Glabus MF, Goodwin GM (1998) Cortical grey matter reductions associated with treatment-resistant chronic unipolar depression - Controlled magnetic resonance imaging study. *British Journal of Psychiatry* 172:527-532.
- Shehzad Z, Kelly AMC, Reiss PT, Gee DG, Gotimer K, Uddin LQ, Lee SH, Margulies DS, Roy AK, Biswal BB, Petkova E, Castellanos FX, Milham MP (2009) The Resting Brain: Unconstrained yet Reliable. *Cerebral Cortex* 19:2209-2229.
- Sheline YI (2003) Neuroimaging studies of mood disorder effects on the brain. *Biological Psychiatry* 54:338-352.
- Sheline YI, Mintun MA (2002) The hippocampus and depression. *European Psychiatry* 17:300S-305S.
- Sheline YI, Price JL, Yan ZZ, Mintun MA (2010) Resting-state functional MRI in depression unmasks increased connectivity between networks via the dorsal nexus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:11020-11025.
- Shulman RG, Hyder F, Rothman DL (2002) Biophysical basis of brain activity: implications for neuroimaging. *Quarterly Reviews of Biophysics* 35:287-325.
- Smith SM (2002) Fast robust automated brain extraction. *Human Brain Mapping* 17:143-155.
- Smith SM, Brady JM (1997) SUSAN - A new approach to low level image processing. *International Journal of Computer Vision* 23:45-78.
- Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TEJ, Johansen-Berg H, Bannister PR, De Luca M, Drobnjak I, Flitney DE, Niazy RK, Saunders J, Vickers J, Zhang YY, De Stefano N, Brady JM, Matthews PM (2004) Advances in

functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage* 23:S208-S219.

Soriano-Mas C, Hernandez-Ribas R, Pujol J, Urretavizcaya M, Deus J, Harrison BJ, Ortiz H, Lopez-Sola M, Menchon JM, Cardoner N (2011) Cross-Sectional and Longitudinal Assessment of Structural Brain Alterations in Melancholic Depression. *Biological Psychiatry* 69:318-325.

Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE (1970) State-Trait Anxiety Inventory, Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. Consulting Psychologist Press.

Spoormaker VI, Schroter MS, Gleiser PM, Andrade KC, Dresler M, Wehrle R, Samann PG, Czisch M (2010) Development of a Large-Scale Functional Brain Network during Human Non-Rapid Eye Movement Sleep. *Journal of Neuroscience* 30:11379-11387.

Squire LR, Bloom FE, McConnell SK, Roberts JL, Spitzer NC, Zigmond MJ (2003) *Fundamental Neuroscience*. San Diego, California: Academic Press Elsevier Science.

Steele JD, Currie J, Lawrie SM, Reid I (2007) Prefrontal cortical functional abnormality in major depressive disorder: A stereotactic meta-analysis. *Journal of Affective Disorders* 101:1-11.

Steptoe A, van Jaarsveld CHM, Semmler C, Plomin R, Wardle J (2009) Heritability of daytime cortisol levels and cortisol reactivity in children. *Psychoneuroendocrinology* 34:273-280.

Stetler C, Miller GE (2011) Depression and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Activation: A Quantitative Summary of Four Decades of Research. *Psychosomatic Medicine* 73:114-126.

Stevens AA, Tappin SC, Garg A, Fair DA (2012) Functional Brain Network Modularity Captures Inter- and Intra-Individual Variation in Working Memory Capacity. *Plos One*.

Straube T, Schmidt S, Weiss T, Mentzel HJ, Miltner WHR (2009) Dynamic activation of the anterior cingulate cortex during anticipatory anxiety. *Neuroimage* 44:975-981.

Strelzyk F, Hermes M, Naumann E, Oitzl M, Walter C, Busch HP, Richter S, Schachinger H (2012) Tune It Down to Live It Up? Rapid, Nongenomic Effects of Cortisol on the Human Brain. *Journal of Neuroscience* 32:616-625.

Swanson LW, Petrovich GD (1998) What is the amygdala? *Trends in Neurosciences* 21:323-331.

Symonds CS, McKie S, Elliott R, Deakin JFW, Anderson IM (2012) Detection of the acute effects of hydrocortisone in the hippocampus using pharmacological fMRI. *European Neuropsychopharmacology* Epub ahead of print.

Tagliazucchi E, Morzelewski A, von Wegner F, Borisov S, Jahnke K, Laufs H (2012) Automatic sleep staging using fMRI functional connectivity data. *Neuroimage* 63:63-72.

Tessner KD, Walker EF, Hochman K, Hamann S (2006) Cortisol responses of healthy volunteers undergoing magnetic resonance imaging. *Human Brain Mapping* 27:889-895.

The American Institute of Stress (2012) What is stress.

Thomason ME, Hamilton JP, Gotlib IH (2011) Stress-induced activation of the HPA axis predicts connectivity between subgenual cingulate and salience network during rest in adolescents. *Journal of Child Psychology and Psychiatry* 52:1026-1034.

Thulborn KR, Waterton JC, Matthews PM, Radda GK (1982) Oxygenation Dependence of the Transverse Relaxation-Time of Water Protons in Whole-Blood at High-Field. *Biochimica et Biophysica Acta* 714:265-270.

Tomasi D, Volkow ND (2010a) Functional connectivity density mapping. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:9885-9890.

Tomasi D, Volkow ND (2010b) Ultrafast method for mapping local functional connectivity hubs in the human brain. pp 4274-4277.

Tomasi D, Volkow ND (2011a) Association between Functional Connectivity Hubs and Brain Networks. *Cerebral Cortex* 21:2003-2013.

Tomasi D, Volkow ND (2011b) Functional connectivity hubs in the human brain. *Neuroimage* 57:908-917.

Tomasi D, Volkow ND (2012) Gender differences in brain functional connectivity density. *Hum Brain Mapp* 849-860.

Tzourio-Mazoyer N, Landeau B, Papathanassiou D, Crivello F, Etard O, Delcroix N, Mazoyer B, Joliot M (2002) Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *Neuroimage* 15:273-289.

Uddin LQ, Kelly AMC, Biswal BB, Castellanos FX, Milham MP (2009) Functional Connectivity of Default Mode Network Components: Correlation, Anticorrelation, and Causality. *Human Brain Mapping* 30:625-637.

Ulrich-Lai YM, Herman JP (2009) Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature Reviews Neuroscience* 10:397-409.

van den Heuvel MP, Mandl RCW, Kahn RS, Pol HEH (2009a) Functionally Linked Resting-State Networks Reflect the Underlying Structural Connectivity Architecture of the Human Brain. *Human Brain Mapping* 30:3127-3141.

van den Heuvel MP, Pol HEH (2010a) Exploring the brain network: A review on resting-state fMRI functional connectivity. *European Neuropsychopharmacology* 20:519-534.

van den Heuvel MP, Pol HEH (2010b) Exploring the functional brain network: how efficient is our brain? *European Neuropsychopharmacology* 20:S81.

van den Heuvel MP, Stam CJ, Boersma M, Pol HEH (2008) Small-world and scale-free organization of voxel-based resting-state functional connectivity in the human brain. *Neuroimage* 43:528-539.

van den Heuvel MP, Stam CJ, Kahn RS, Pol HEH (2009b) Efficiency of Functional Brain Networks and Intellectual Performance. *Journal of Neuroscience* 29:7619-7624.

van Marle HJF, Hermans EJ, Qin SZ, Fernandez G (2010) Enhanced resting-state connectivity of amygdala in the immediate aftermath of acute psychological stress. *Neuroimage* 53:348-354.

Veer IM, Oei NYL, Spinhoven P, van Buchem MA, Elzinga BM, Rombouts SAR (2011a) Beyond acute social stress: Increased functional connectivity between amygdala and cortical midline structures. *Neuroimage* 57:1534-1541.

Veer IM, Oei NY, Spinhoven P, van Buchem MA, Elzinga BM, Rombouts SA (2011b) Endogenous cortisol is associated with functional connectivity between the amygdala and medial prefrontal cortex. *Psychoneuroendocrinology* 36:1039-1047.

Venero C, Borrell J (1999) Rapid glucocorticoid effects on excitatory amino acid levels in the hippocampus: a microdialysis study in freely moving rats. *European Journal of Neuroscience* 11:2465-2473.

Videbech P, Ravnkilde B (2004) Hippocampal volume and depression: A meta-analysis of MRI studies. *American Journal of Psychiatry* 161:1957-1966.

Wang JJ, Korczykowski M, Rao HY, Fan Y, Pluta J, Gur RC, McEwen BS, Detre JA (2007) Gender difference in neural response to psychological stress. *Social Cognitive and Affective Neuroscience* 2:227-239.

Wang JJ, Rao HY, Wetmore GS, Furlan PM, Korczykowski M, Dinges DF, Detre JA (2005) Perfusion functional MRI reveals cerebral blood flow pattern under psychological stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:17804-17809.

Wang L, Hermens D.F., Hickie I.B., Lagopoulos J (2012) A systematic review of resting-state functional-MRI studies in major depression. *J Affect Disord.*

Webster MJ, Knable MB, O'Grady J, Orthmann J, Weickert CS (2002) Regional specificity of brain glucocorticoid receptor mRNA alterations in subjects with schizophrenia and mood disorders. *Molecular Psychiatry* 7:985-994.

Weissenbacher A, Kasess C, Gerstl F, Lanzenberger R, Moser E, Windischberger C (2009) Correlations and anticorrelations in resting-state functional connectivity MRI: A quantitative comparison of preprocessing strategies. *Neuroimage* 47:1408-1416.

Whitfield-Gabrieli S, Nieto-Castanon A (2012) Conn: a functional connectivity toolbox for correlated and anticorrelated brain networks. *Brain Connect* 2:125-141.

Wittchen HU, Jacobi F, Rehm J, Gustavsson A, Svensson M, Jonsson B, Olesen J, Allgulander C, Alonso J, Faravelli C, Fratiglioni L, Jennum P, Lieb R, Maercker A, van Os J, Preisig M, Salvador-Carulla L, Simon R, Steinhausen HC (2011) The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. *European Neuropsychopharmacology* 21:655-679.

Wittling W (1997) The right hemisphere and the human stress response. *Acta Physiologica Scandinavica* 161:55-59.

Wust S, Federenko I, Hellhammer DH, Kirschbaum C (2000) Genetic factors, perceived chronic stress, and the free cortisol response to awakening. *Psychoneuroendocrinology* 25:707-720.

Wust S, Federenko IS, Van Rossum EFC, Koper JW, Kumsta R, Entringer S, Hellhammer DH (2004) A psychobiological perspective on genetic determinants of hypothalamus-pituitary-adrenal axis activity. *Biobehavioral Stress Response: Protective and Damaging Effects* 1032:52-62.

Xiong JH, Parsons LM, Gao JH, Fox PT (1999) Interregional connectivity to primary motor cortex revealed using MRI resting state images. *Human Brain Mapping* 8:151-156.

Xu Y, Day TA, Buller KM (1999) The central amygdala modulates hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to systemic interleukin-1 beta administration. *Neuroscience* 94:175-183.

Yanovski JA, Cutler GB, Chrousos GP, Nieman LK (1998) The dexamethasone-suppressed corticotropin-releasing hormone stimulation test differentiates mild Cushing's disease from normal physiology. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 83:348-352.

Ziegler DR, Herman JP (2002) Neurocircuitry of stress integration: Anatomical pathways regulating the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis of the rat. *Integrative and Comparative Biology* 42:541-551.

Zobel AW, Nickel T, Sonntag A, Uhr M, Holsboer F, Ising M (2001) Cortisol response in the combined dexamethasone/CRH test as predictor of relapse in patients with remitted depression: a prospective study. *Journal of Psychiatric Research* 35:83-94.

Zschocke S (2002) *Klinische Elektroenzephalographie*. Heidelberg: Springer Verlag.

VI Danksagung

Am Ende dieser Arbeit bleibt mir allen Menschen zu Danken, die an der Entstehung dieser Arbeit direkt oder indirekt beteiligt waren, denen ich während dieser Zeit begegnet bin und die damit ihren Teil zu dieser Arbeit beigetragen haben.

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. R. Rupprecht für die Annahme der Dissertation bedanken und Herrn Prof. Dr. med. Dr. Dr. h.c. F. Holsboer für die Möglichkeit an diesem wunderbaren Institut meine Forschungsarbeit durchzuführen.

Ich bedanke mich bei Herrn PD Dr. C. Schüle, Herrn Prof. Dr. med. G. Stalla und Frau Prof. Dr. S. Ziegler, die sich freundlicherweise dazu bereit erklärt hatten, meine Promotionsvorprüfung abzunehmen.

Mein ganz besonderer Dank gebührt Philipp Sämann für die ungewöhnlich engagierte, in vielerlei Hinsicht lehrreiche Betreuung und gute Zusammenarbeit, welche von einem freundschaftlichen Verhältnis mit wertvollen Anregungen und vielfältiger Unterstützung zum Gelingen dieser Arbeit geprägt waren. Vielen Dank für die Einführung in die Welt der methodischen Möglichkeiten, die kritische Hinterfragung und die (Fach-)Gespräche zwischendurch.

Ich bedanke mich ganz herzlich bei der gesamten Arbeitsgruppe Neuroimaging. Allen voran dem Arbeitsgruppenleiter Michael Czisch, für seine kollegiale Führung, das Vertrauen in seine Mitarbeiter und die Präsenz, wenn erforderlich. Victor Spoomaker danke ich besonders für die geduldige Einweisung in die Welt der Statistik, die beinahe täglichen Kaffeepausen und seinen Humor bei der Arbeit. Ich bedanke mich außerordentlich bei Kátia Andrade für die herzliche Aufnahme im Büro am Anfang und die Hilfestellung bei allen möglichen und unmöglichen Programmierschwierigkeiten. Auch den später hinzugekommenen Zimmergenossen Roberto, Alina und AC, der „Tierfraktion“ Barbara, Bene und Sebi, dem „Zuspätkommerraum“ Anja, Barbara, Brice, Geraldine und Yorick sowie Boris, Lisa und Martin für die großen und kleinen Hilfen im Alltag und vor allem die Abwechslung zwischendurch. Bedanken möchte ich mich auch bei den tollsten MTAs, Elke, Ines, Rosa und Reinhold für die Unterstützung in allen Bereichen, sowie Armin für den technischen Support auch abseits des MRT. Vielen Dank euch allen – es war eine unvergessliche Zeit und eure Anwesenheit machten selbst die längsten Arbeitszeiten zum Vergnügen. Danke.

Tiefe Dankbarkeit gilt besonders meinen Eltern, die meine akademische Ausbildung stets unterstützt haben, immer an mich geglaubt haben und es mit ihrer Hilfe möglich gemacht haben meiner Neugierde zu folgen. Der besten Schwester der Welt danke ich für das Mitfiebern aus der Ferne und die Unterstützung und Motivation bis zum Schluss.

Schließlich danke ich meinen lieben Freunden, allen voran meinem Lebensgefährten Otto, die mich zu jeder Zeit und insbesondere auch während der Entstehung dieser Arbeit mit großem Verständnis und Geduld begleitet und getragen haben und auf die in allen Lebenslagen Verlass ist.

